

PARTE GENERALE

Introduzione

Nel dicembre 2019 un cluster di polmonite ad eziologia sconosciuta è stato segnalato a Wuhan, nella Provincia di Hubei, in Cina. L'agente causale è stato identificato come un nuovo coronavirus (denominato inizialmente 2019-nCoV, in seguito SARS-CoV-2).

I coronavirus sono una vasta famiglia di virus i cui primi esponenti furono identificati a metà anni '60. Si tratta di virus a RNA a filamento positivo che devono il nome al particolare aspetto simile ad una corona, apprezzabile al microscopio elettronico. Essi sono noti per infettare l'uomo (ad oggi, sette coronavirus hanno dimostrato di esserne in grado) ed alcuni animali (inclusi uccelli e mammiferi). Nella nostra specie essi causano malattie che vanno dal comune raffreddore a condizioni ben più gravi, come la Sindrome Respiratoria Mediorientale (MERS) e la Sindrome Respiratoria Acuta Grave (SARS). Le cellule bersaglio principali sono infatti quelle epiteliali dei tratti respiratorio e gastrointestinale.

Il nuovo coronavirus, identificato lo scorso dicembre, è anch'esso un virus a RNA a singola elica con polarità positiva, non segmentato. La sua proteina bersaglio è il recettore ACE2, localizzato principalmente sulle cellule alveolari di tipo II e sull'epitelio intestinale.

La malattia provocata da SARS-CoV-2 prende il nome di "COVID-19" (dove "CO" sta per corona, "VI" per virus, "D" per disease e "19" indica l'anno in cui si è manifestata per la prima volta).

Il danno determinato dal virus sembra essere composto da due fasi in successione. I primi giorni la replicazione virale, e in parte la risposta immunitaria innata che non riesce a contenerla, determina danno alveolare diffuso. Durante questa fase, a livello clinico, il soggetto infettato può presentare una blanda sintomatologia simil-influenzale. Dopodiché, in alcuni soggetti, subentra una forte risposta infiammatoria ("tempesta citochinica"), prodotto dell'immunità adattativa, che riduce il titolo virale ma determina un importante danno tissutale e impegno d'organo, responsabili del repentino peggioramento clinico. In quest'ultima fase possono esserci innalzamenti dei livelli di Proteina C Reattiva, ferritina e IL-6, che sembrano correlare positivamente con la severità della malattia e la mortalità.

Epidemiologia

Storia

Il 31 dicembre 2019 le autorità cinesi riferiscono all'OMS l'emergere di diversi casi di una polmonite dalle caratteristiche inusuali. L'epicentro è a Wuhan, città da 11 milioni di abitanti nella provincia di Hubei. Per molti dei casi riscontrati viene individuato come elemento comune la frequentazione del centrale mercato del pesce e altri animali vivi, fatto che suggerisce una iniziale trasmissione da animale ad essere umano.

Il 3 gennaio 2020, sempre a Wuhan, il nuovo coronavirus viene identificato nei campioni dei lavaggi broncoalveolari dei pazienti affetti da polmonite; ecco che 2019-nCoV venne identificato come l'agente causale di tali polmoniti.¹

A gennaio la malattia diffonde rapidamente ad altre aree cinesi e si individuano i primi casi oltreoceano in Thailandia, Corea del Sud e Giappone. La trasmissione virale non avviene più da animale ad uomo ma è diventata inter-umana, come confermato da ricercatori cinesi. Wuhan diventa una città blindata, vastissima area in lockdown (lockdown: isolamento, chiusura, protocollo d'emergenza che impone restrizioni alla libera circolazione delle persone per ragioni di salute o di pubblica sicurezza).

Il 31 gennaio 2020 il Direttore generale dell'OMS dichiara il focolaio internazionale da nuovo coronavirus un'emergenza di sanità pubblica di rilevanza internazionale (Public Health Emergency of International Concern – PHEIC). Si intende con questo termine un evento straordinario che può costituire una minaccia sanitaria per gli altri Stati membri attraverso la diffusione di una malattia e che richiede una risposta coordinata a livello internazionale.

Lo stesso giorno si riscontrano i primi due casi di COVID-19 in Italia, si tratta di una coppia di turisti cinesi.

A febbraio alcuni importanti eventi vengono cancellati (il Mobile World Congress di Barcellona, il salone dell'auto di Ginevra, il salone del mobile di Milano, Vinitaly..) mentre altri vengono comunque effettuati (tra questi la partita Atalanta-Valencia, disputata a San Siro, del 19 febbraio, che darà forse un importante contributo alla diffusione del contagio nel nord Italia). Il 21 febbraio 2020 viene accertato il primo caso di contagio di SARS-CoV-2 in Italia, nonché la prima vittima. Vengono istituite cosiddette zone rosse nei comuni veneti e lombardi che presentano focolai di contagio, con divieto di accesso o allontanamento dal territorio comunale e sospensione di qualsiasi evento, pubblico e privato. Nonostante ciò, sono ancora diffusi da parte di vari politici messaggi tranquillizzanti volti a non rallentare le attività economiche, in una generale sottovalutazione della situazione, ancora non emersa nella sua gravità.

A marzo l'importante aumento in Italia del numero di casi e decessi impone l'adozione di misure sempre più stringenti quali la chiusura delle scuole, l'estensione dello status di zona rossa all'intera Lombardia e poi l'estensione dello status di "zona protetta" a tutto il Paese.

Dopo l'Italia ogni Stato, europeo ed extra-europeo, viene colpito più o meno duramente da quella che, l'11 marzo, è dichiarata pandemia da coronavirus (pandemia: malattia infettiva epidemica che si diffonde rapidamente in più aree geografiche del mondo, così da coinvolgere un elevatissimo numero di persone). Ogni Stato organizza diversamente la propria risposta in base alle politiche sanitarie ed economiche nazionali ed alle indicazioni che pervengono dai propri esperti.

In Italia le misure di contenimento e prevenzione del contagio sono volte ad evitare la saturazione dei reparti ospedalieri e, soprattutto, delle terapie intensive, messe a dura prova in Lombardia. Le misure adottate portano a maggio un calo nel numero dei contagi e dei ricoveri, permettendo un graduale ritorno alla normalità, sempre però nel rispetto del distanziamento sociale e dell'utilizzo della mascherina chirurgica.

Sarà importante da questo momento in poi la veloce individuazione di nuovi focolai per tracciare i contatti avvenuti e, attraverso il loro isolamento e trattamento, delimitarne e limitarne la diffusione.

Incidenza

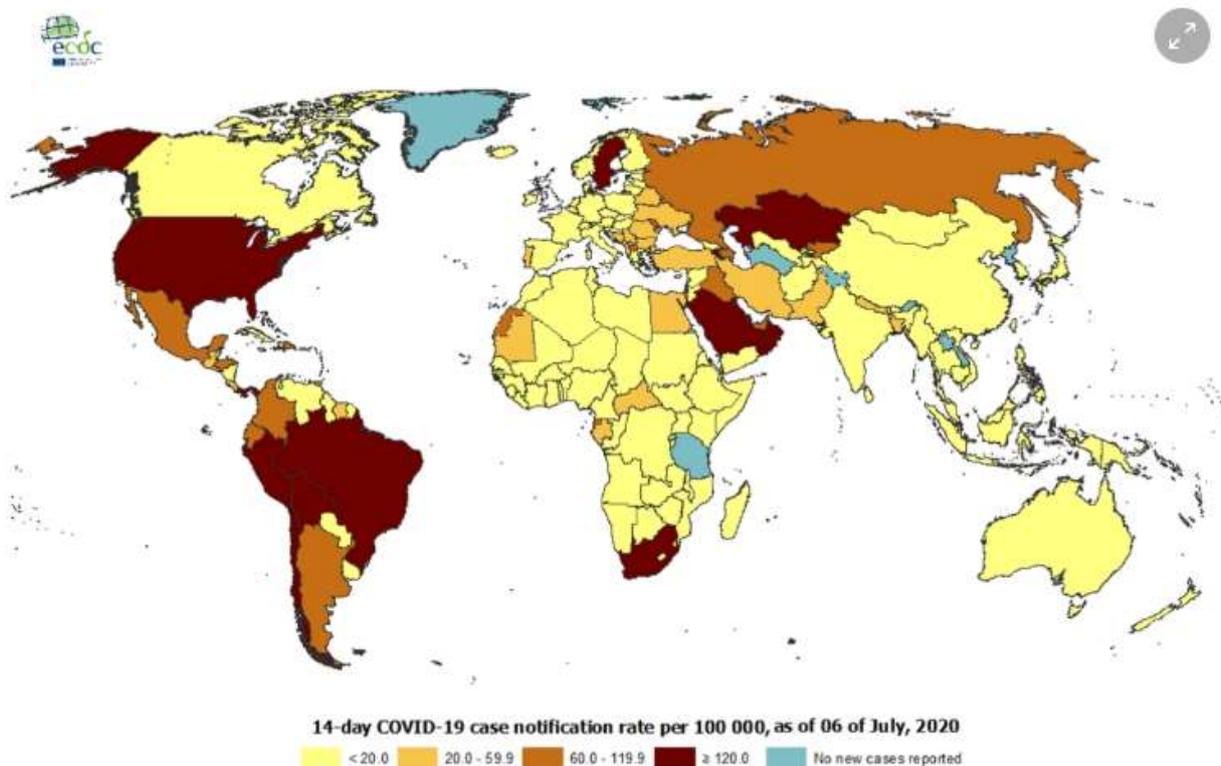
In base ai dati pubblicati dal Centro europeo per la prevenzione e controllo delle malattie (ECDC), al 18 luglio sono stati identificati nel mondo 14.044.869 casi confermati di COVID-19, di cui 597.148 decessi.

Per quanto riguarda l'Europa al 18 luglio i casi sono 2.670.876 con cinque stati che ne riportano il maggior numero: Russia (765.437), Gran Bretagna (293.239), Spagna (260.255), Italia (243.967) e Germania (201.372). Sempre in Europa i decessi sono stati 199.492; i cinque stati che ne hanno

riportati di più risultano essere: Gran Bretagna (45.233), Italia (35.028), Francia (30.152), Spagna (28.420) e Russia (12.247).

Il confronto tra dati di nazioni differenti è però molto difficile da effettuare in quanto ogni paese presenta una popolazione con caratteristiche specifiche, un modello sanitario con specifici obiettivi ed organizzazione, proprie politiche sociali, sanitarie ed economiche.

Geographic distribution of 14-day cumulative number of reported COVID-19 cases per 100 000 population, worldwide, as of 7 July 2020



The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union.

Date of production: 07/07/2020

In Italia i dati forniti dal Ministero della Salute, sempre alla data del 18 luglio, indicano 244.216 casi totali confermati, di cui: 35.042 decessi, 196.806 guariti, 757 ricoverati, 50 soggetti in terapia intensiva e 11.516 soggetti positivi al tampone diagnostico ma con un quadro clinico tale da rendere sufficiente l'isolamento domiciliare.

La regione più colpita rimane la Lombardia con 95.459 casi totali e 16.788 morti.

In Toscana i dati, organizzati e diffusi dall'Agenzia Regionale di Sanità (ARS Toscana) indicano fino al 18 luglio 10.358 casi totali, di cui 1.367 in provincia di Lucca, e 1.129 decessi, 143 in provincia di Lucca.

Origine

Il coronavirus SARS-CoV-2 è stato sequenziato a metà gennaio da ricercatori cinesi e successivamente in altri laboratori. I risultati mostrano che esso condivide per il 79,5% la sequenza genica con il coronavirus della SARS, che presenta inoltre lo stesso recettore d'ingresso cellulare ACE2, e per il 96,2% quella di un altro coronavirus che alberga solitamente nei pipistrelli. Questi mammiferi alati rappresentano il serbatoio naturale di un centinaio di virus tra cui MERS-CoV,

SARS-CoV, virus Ebola e virus della rabbia. Non è stata ancora individuata con certezza la specie reservoir ma si suppone sia la *Rhinolophus affinis*, con trasmissione diretta all'uomo o con ospiti intermedi al momento non identificati.²⁻⁴

Trasmissione

Complessivamente si conoscono cinque modalità di trasmissione del virus, di cui la prima rappresenta la via largamente prevalente (come per tutte le infezioni respiratorie, influenza compresa): contagio mediante droplets (particelle > 5 mm); contagio mediato da fomiti (oggetti inanimati contaminati); contagio per via oro-fecale (ma si tratterebbe di casi rari); trasmissione materno-fetale (rara anch'essa)^{5,6} ed infine contagio mediante aerosol (non dimostrato).

La via primaria di contagio sono le goccioline del respiro (droplets) emesse dalle persone infette durante l'eloquio e soprattutto attraverso colpi di tosse e starnuti.⁷ In questo caso la maggiore probabilità di infezione si ha trovandosi nel cosiddetto "cono espiratorio", ovvero di fronte e nelle immediate vicinanze del paziente, ad una distanza stimata di diffusione di circa un metro. Il metodo di prevenzione di questo tipo di trasmissione consiste nell'utilizzo della mascherina chirurgica.³

L'emissione di droplets fa sì che il virus raggiunga anche la superfici degli oggetti vicini e vi si depositi sotto forma di film sottile. Il successivo contatto con la superficie contaminata rende le mani infettanti. A questo punto, toccando una superficie mucosa come bocca, naso o occhi, si permette l'entrata del virus nell'organismo. L'infezione mediata da fomiti rappresenta una via di trasmissione fondamentale nella diffusione di patologie come questa, anche se molto spesso sottovalutata.

A tal proposito un dato controverso è quello che concerne la persistenza del virus in ambiente e su differenti materiali, per ore o giorni (da 2 ore a 9 giorni). Il tempo di sopravvivenza dipende da vari fattori, tra cui il tipo di superficie, la temperatura e l'umidità relativa. Tuttavia, l'utilizzo di semplici disinfettanti a base di alcol (etanolo) al 75% o a base di cloro allo 0,5% è in grado di uccidere il virus in meno di un minuto.⁸

Per quanto riguarda l'infezione mediata da aerosol (particelle < 5 mm) è controverso se il SARS-CoV-2 possa infettare tramite questa modalità. Generalmente le particelle rimangono nell'aria più a lungo dei droplets e presuppongono l'utilizzo di dispositivi di protezione di terzo livello (tra cui mascherine FFP3) per il trattamento dei pazienti. Nonostante questa discordanza, le linee guida stilate dai CDC americani e dall'OMS sottolineano l'importanza di indossare una mascherina di tipo FFP2 o FFP3 in caso di manovra sul paziente che possa provocare l'emissione di aerosol infetto (NIV, RCP, intubazione).⁹

Sulla base dei dati disponibili, l'OMS ha più volte ribadito che il contatto con i casi sintomatici (persone che hanno contratto l'infezione e hanno già manifestato i sintomi della malattia) è il motore principale della trasmissione del nuovo coronavirus. La trasmissione da persona a persona avviene quindi generalmente attraverso il contatto con le secrezioni infette di una persona malata. Casi di trasmissione da soggetti asintomatici o pre-sintomatici sono comunque possibili e descritti, ma si tratterebbe di una trasmissione meno frequente, dato che l'assenza di sintomi quali tosse e raffreddore rendono più difficile il contagio.

Un parametro importante nello studio e nel controllo di un'epidemia è il parametro R0 (numero di riproduzione di base) che rappresenta il numero medio di persone infettate da un singolo caso durante il periodo infettivo in una popolazione interamente suscettibile. Si tratta di una misura che stima la contagiosità di un agente infettivo e che permette di valutare l'efficacia delle misure adottate per ridurne la diffusione. Una revisione sistematica della letteratura che ha incluso cinquantadue studi ha individuato per SARS-CoV-2 un R0 di 3,77 (scarto interquartile IQR 2,78-5,13), ridotto a 1,88 (IQR 1,41-2,24) dalle misure di lockdown¹⁰.

Clinica

Il periodo medio di incubazione è di circa 5 giorni, quello massimo di 12; il range stimato è di 2-14 giorni. Un recente studio pubblicato su *Annals of Internal Medicine* suggerisce che nel 97,5% dei casi i sintomi compaiono entro 11,5 giorni.^{11,12}

I principali sintomi di esordio (spesso incostanti e aspecifici) sono¹³:

- Febbre (80-98%), l'assenza non esclude la diagnosi di COVID-19;
- Tosse secca (76%);
- Dispnea (20-60%), inizialmente ridotta tolleranza allo sforzo, poi dispnea per sforzi lievi e a riposo;
- Malessere, mialgia (10-44%);
- Espettorato (28%);
- Rinorrea (5-15%);
- Cefalea (10%);
- Disturbi gastrointestinali (5-10%);
- Emottisi (5%);
- Faringite (2%);
- Congiuntivite (1%);
- Ageusia (perdita del gusto) o anosmia (perdita dell'olfatto) (tra il 22 e il 68% secondo recenti metanalisi, ma i dati sono ancora contrastanti)¹⁴.

Come si può osservare dalla lista sopra riportata, il sintomo più frequente in assoluto è la febbre, che può essere assente nella metà circa dei pazienti al momento della prima osservazione, ma che si sviluppa in quasi il 90% dei casi durante l'ospedalizzazione. Il decorso febbrile nei pazienti affetti da COVID-19 non è ancora del tutto compreso, ma sembra che possa essere continua o intermittente.

Anche la tosse è spesso presente, più frequentemente si tratta di una tosse secca ma può diventare produttiva in un terzo dei pazienti circa.

Può inoltre essere presente una sintomatologia aspecifica, caratterizzata da mialgie, artralgie, astenia e meno frequentemente da cefalea, faringodinia ed emottisi. Molto più raro è invece il coinvolgimento delle mucose nasali e congiuntivali; infrequenti risultano anche i sintomi del tratto gastroenterico.^{11,15}

La presentazione clinica risulta essere quanto mai eterogenea: circa l'80% dei pazienti mostra un quadro clinico lieve; il 15% sviluppa una forma moderata-grave (dispnea, tachipnea, P/F < 300, infiltrati polmonari bilaterali > 50%); il 5% necessita di ricovero in terapia intensiva sviluppando un quadro critico (insufficienza respiratoria grave, shock, MODS). La mortalità è di circa il 2-10%.¹⁵ Alcuni dati sembrano indicare un potenziale deterioramento clinico durante la seconda settimana di malattia.^{16,17} In uno studio, fra i pazienti con polmonite da SARS-CoV-2, circa la metà sviluppava

dispnea con una mediana di 8 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi (range 5-13 giorni); in un altro report il tempo medio dall'insorgenza dei sintomi all'ospedalizzazione per polmonite era di 9 giorni.¹³

I pazienti più anziani e con comorbidità sottostanti presentano un rischio maggiore di sviluppare una forma grave di malattia.^{13 17}

Le comorbidità maggiormente associate ai casi più gravi sono:

- Patologie cardiovascolari (10-30%);
- Ipertensione (10-30%);
- Diabete mellito (20%);
- Malattie respiratorie croniche (8%);
- Patologie oncologiche (6%).¹⁸

I pazienti senza comorbidità, presentano un tasso di letalità dello 0,9% che tende a crescere al 10,5% nei pazienti con patologie cardiovascolari, 7% nei diabetici e 6% nei pazienti affetti da ipertensione, cancro e patologie respiratorie croniche.

Il tasso di letalità è legato anche alla semplice età infatti, nei pazienti over 60 risulta crescente con l'aumentare dell'età (60-69 anni: 3,6%; 70-79 anni: 8%; \geq 80 anni: 14,8%).

La frequenza dei casi asintomatici non è nota.¹⁹ Una comunicazione dell'International Journal of Infectious Disease relativa a un gruppo di persone evacuate in Giappone ha stimato un 31% di soggetti infetti asintomatici. Dai dati ottenuti dall'epidemia di COVID-19 avvenuta su di una nave da crociera, dove pressoché tutti i membri dell'equipaggio ed i passeggeri sono stati testati per SARS-CoV-2, circa il 17% della popolazione a bordo è risultata positiva; dei 619 individui risultati positivi, circa la metà era asintomatica al momento della diagnosi. Un altro studio indicativo da questo punto di vista è quello che si è svolto a Vò Euganeo, in Veneto; in questa cittadina di 3.275 abitanti è stato testato, all'inizio e alla fine del lockdown imposto dal 23 febbraio all'8 marzo, l'85,9% della popolazione prima e il 71,5% poi, mediante tampone orofaringeo. All'inizio del lockdown i tamponi positivi avevano una prevalenza del 2,6% e di questi il 41,1% appartenevano a soggetti asintomatici. Alla fine del lockdown la prevalenza di positivi era scesa all'1,2%, con un 44,8% di asintomatici.

Nella popolazione pediatrica, le informazioni circa la presentazione clinica, il decorso e i fattori di rischio per lo sviluppo di forme gravi sono al momento limitate. Nella popolazione cinese, solo il 2,1% dei pazienti con COVID-19 aveva meno di 20 anni e non è stato riportato alcun decesso sotto i due anni di età. Dai dati attualmente disponibili, la sintomatologia nei bambini sembra essere più lieve rispetto a quella sviluppata dagli adulti, la maggior parte infatti sviluppava febbre, tosse, congestione nasale e rinorrea. Alcuni studi, in Francia e in Italia, evidenziano come nella popolazione pediatrica possa essere presente una connessione fra infezione da SARS-CoV-2 e Malattia di Kawasaki. La malattia di Kawasaki è una vasculite sistemica acuta accompagnata da febbre che si manifesta nell'infanzia e coinvolge vasi di medio e piccolo calibro, con un particolare tropismo per le arterie coronarie. Non esistono test specifici per confermare la diagnosi, se non alcuni criteri clinici approvati a livello internazionale che comprendono una febbre della durata di almeno cinque giorni associata ad almeno quattro fra i seguenti punti: congiuntivite bilaterale, infiammazione della mucosa buccale o delle labbra, esantema polimorfo, cambiamenti nelle estremità o nell'area perineale e linfadenopatia cervicale di dimensioni di almeno 15 mm.

La causa della malattia di Kawasaki non è ben conosciuta, tuttavia in alcuni paesi si nota una certa stagionalità della malattia, in relazione con la diffusione di virus stagionali come quello dell'influenza e il virus respiratorio sinciziale. Questa correlazione ha portato alla considerazione che anche l'infezione da Nuovo Coronavirus potesse fare da trigger per lo sviluppo di questa vasculite. Gli stu-

di condotti a Parigi, che riportano un aumento dei casi di Kawasaki del 496% nell'aprile 2020, con un picco registratosi circa 15 giorni dopo il picco di contagi del SARS-CoV-2, sembrano avallare questa ipotesi ma la correlazione non è comunque stata dimostrata.

Fenotipi

In base all'esperienza cinese e lombarda è stata effettuata una stratificazione dei pazienti sintomatici positivi a SARS-CoV-2 in 5 fenotipi ai quali corrisponde una diversa gestione. Caratteristica comune a tutti i pazienti è la leucopenia, associata ad alcalosi respiratoria all'emogasanalisi (EGA):

- Fenotipo 1: febbre senza insufficienza respiratoria (EGA e walking test normali), sintomi respiratori (non sempre presenti), RX del torace negativa. Viene eseguito il tampone se considerato a rischio e si gestisce a domicilio effettuando un attento monitoraggio delle condizioni cliniche e dell'evoluzione. Auto-quarantena in attesa di tampone o fino a completa scomparsa dei sintomi;
- Fenotipo 2: febbre con RX torace ed EGA indicativi per addensamento polmonare e/o insufficienza respiratoria modesta ($\text{PaO}_2 > 60$ mmHg con FiO_2 21%). Si tratta di pazienti solitamente ricoverati in area medica, ed eventualmente trattati con ossigenoterapia a bassi flussi. Il quadro clinico può deteriorare rapidamente o andare incontro a miglioramento;
- Fenotipo 3: febbre con insufficienza respiratoria moderata-grave documentata all'EGA con FiO_2 21% ed RX torace con addensamenti polmonari multipli ($\text{PaO}_2 < 60$ mmHg con FiO_2 21%). Questi pazienti vengono trattati con ossigenoterapia ad alti flussi e solitamente gestiti in area subintensiva;
- Fenotipo 4: insufficienza respiratoria con sospetta ARDS iniziale (pre-ARDS) o polmonite complicata. Sono pazienti che oltre all'ossigenoterapia necessitano di trattamento ventilatorio di supporto mediante CPAP/NIV/IOT e ventilazione invasiva con ricovero in Terapia Intensiva;
- Fenotipo 5: ARDS conclamata all'esordio. Si tratta di pazienti che necessitano di IOT precoce e ventilazione invasiva e ricovero in Terapia Intensiva; sono più frequentemente maschi di età compresa tra i 35 e i 70 anni che presentano anche valori di PaO_2 di 35-40 mmHg. Frequentemente la clinica non correla con la gravità dei dati biochimici.

Diagnosi

Il primo step dell'iter diagnostico della COVID-19 è un'accurata anamnesi epidemiologica che evidenzia una storia di effettiva esposizione del paziente al contagio nelle due settimane precedenti, a seguito di contatti stretti con casi sospetti/confermati per infezione da SARS-CoV-2.

Definizioni

Caso sospetto: persona con infezione respiratoria acuta ed insorgenza improvvisa di almeno uno tra i seguenti segni e sintomi:

- Febbre, tosse, dispnea (ILI, Influenza Like Illness o sindrome simil-influenzale), anosmia, aneuria, disgeusia che richiedono o meno il ricovero ospedaliero

e che soddisfino almeno uno dei seguenti criteri epidemiologici (riferiti ai 14 giorni precedenti la comparsa dei segni e dei sintomi):

- Essere un contatto stretto di un caso confermato o probabile di SARS-CoV-2;

- Essere stato in zone con presunta trasmissione comunitaria;
- Aver lavorato o aver frequentato una struttura sanitaria dove sono stati ricoverati pazienti con infezione da SARS-CoV-2.

Tuttavia a seguito del DPCM del 09/03/2020 che ha individuato come “zona arancione” tutto il territorio nazionale, i criteri epidemiologici sopraelencati appaiono superati, ponendo l’attenzione principalmente sul criterio clinico.

Caso probabile: caso sospetto il cui risultato del test per SARS-CoV-2 è dubbio o inconcludente utilizzando protocolli specifici di Real Time PCR per SARS-CoV-2 presso i Laboratori di Riferimento Regionali individuati o è positivo utilizzando un test-pancoronavirus.

Caso confermato: un caso con una conferma di laboratorio effettuata presso il laboratorio di riferimento dell’Istituto Superiore di Sanità per infezione da SARS-CoV-2, indipendentemente dai segni e dai sintomi clinici.

Contatto stretto:

- Operatore sanitario o altra persona impiegata nell’assistenza di un caso sospetto o confermato di COVID-19, o personale di laboratorio addetto al trattamento di campione di SARS-CoV-2 e non protetto da DPI;
- Essere stato a stretto contatto (faccia a faccia con distanza minore di 2 metri) o nello stesso ambiente chiuso con un caso sospetto o confermato di COVID-19 per più di 15 minuti;
- Vivere nella stessa casa con un caso sospetto o confermato di COVID-19;
- Aver viaggiato in aereo nella stessa fila o nelle due file antecedenti o successive di un caso sospetto o confermato di COVID-19, compagni di viaggio o persone addette all’assistenza e membri dell’equipaggio addetti alla sezione di aereo dove il caso indice era seduto (qualora il caso indice abbia una sintomatologia grave o abbia effettuato spostamenti all’interno dell’aereo indicando una maggiore esposizione dei passeggeri, considerare come contatti stretti tutti i passeggeri seduti nella stessa sezione dell’aereo o in tutto l’aereo).

Il collegamento epidemiologico può essere avvenuto entro un periodo di 14 giorni prima o dopo la manifestazione della malattia nel caso in esame.

I tamponi

In linea con le indicazioni dell’OMS, la diagnosi di laboratorio del virus va effettuata, dove possibile, su campioni biologici prelevati dalle basse vie respiratorie (espettorato, aspirato endotracheale o lavaggio bronco-alveolare) poiché il SARS-CoV-2 prolifera preferenzialmente nelle cellule alveolari di tipo II (AT2). Se i pazienti non presentano segni di malattia delle basse vie respiratorie, o se la raccolta dei materiali del tratto respiratorio inferiore non è possibile seppur clinicamente indicata, si raccomanda la raccolta di campioni biologici prelevati dalle alte vie respiratorie (aspirato rinofaringeo, tamponi nasofaringei e orofaringei combinati).

In realtà, la stragrande maggioranza dei test viene effettuato sui tamponi naso-faringei, in quanto è una metodica rapida e di facile esecuzione, anche perché è molto difficile disporre dell’escreato del paziente, visto che uno dei sintomi della COVID-19 è la tosse secca e non produttiva.

La specificità del tampone, ossia la capacità di identificare in modo univoco SARS-CoV-2, risulta essere elevata ($\geq 90\%$) ma la sensibilità, ovvero la capacità di individuare RNA virale quando l’infezione è presente, non è altrettanto elevata (secondo alcuni studi sembra essere compresa tra il 60 e il 70%).

In caso di risultato negativo di un test condotto su un campione biologico da paziente fortemente sospetto, si raccomanda di ripetere il prelievo da campioni biologici in tempi successivi e da diversi siti del tratto respiratorio (naso, espettorato, aspirato endotracheale).

L'indicazione all'esecuzione del tampone è posta dal medico in soggetti sintomatici per infezione respiratoria acuta e che soddisfino i criteri indicati nella circolare del Ministero della Salute del 09/03/2020, tra cui: il contatto con un caso probabile o confermato di COVID-19, la provenienza da aree con trasmissione locale, il ricovero in ospedale o la permanenza in RSA e l'assenza di un'altra causa che spieghi pienamente il quadro clinico.

La diagnosi viene eseguita nei laboratori di riferimento regionale. L'unico test attualmente utile per la diagnosi (alta sensibilità e specificità pari al 95% per entrambe) è di fatto il test molecolare con metodo Real Time PCR per SARS-CoV-2. In caso di positività al nuovo coronavirus, la diagnosi deve essere confermata dal laboratorio di riferimento nazionale dell'Istituto Superiore di Sanità.²⁰

I metodi di rilevamento risentono fortemente di alcuni fattori:

- Adeguata rappresentatività del secreto rino-faringeo, ovvero carica virale al momento del campionamento (la mancanza della finestra temporale della replicazione virale può fornire risultati falsi negativi);
- Raccolta errata del campione;
- Tempo trascorso dal momento in cui il soggetto testato ha avuto contatto con un altro soggetto portatore di virus.

Secondo le indicazioni del Consiglio Superiore della Sanità, sulla base delle evidenze scientifiche finora disponibili, non è raccomandata l'esecuzione del tampone ai casi asintomatici.

Test sierologici

Oltre alla diagnosi per mezzo di tampone è stata approvata dalla WHO anche la diagnosi per mezzo di test sierologici in grado di identificare IgG e IgM in un prelievo di sangue venoso. Esistono due diversi tipi di test sierologici:

- test rapido (qualitativo) attraverso il quale si stabilisce la presenza o meno degli anticorpi nel campione;
- test semi quantitativo: attraverso il quale si misura la quantità di anticorpi presenti nel sangue.

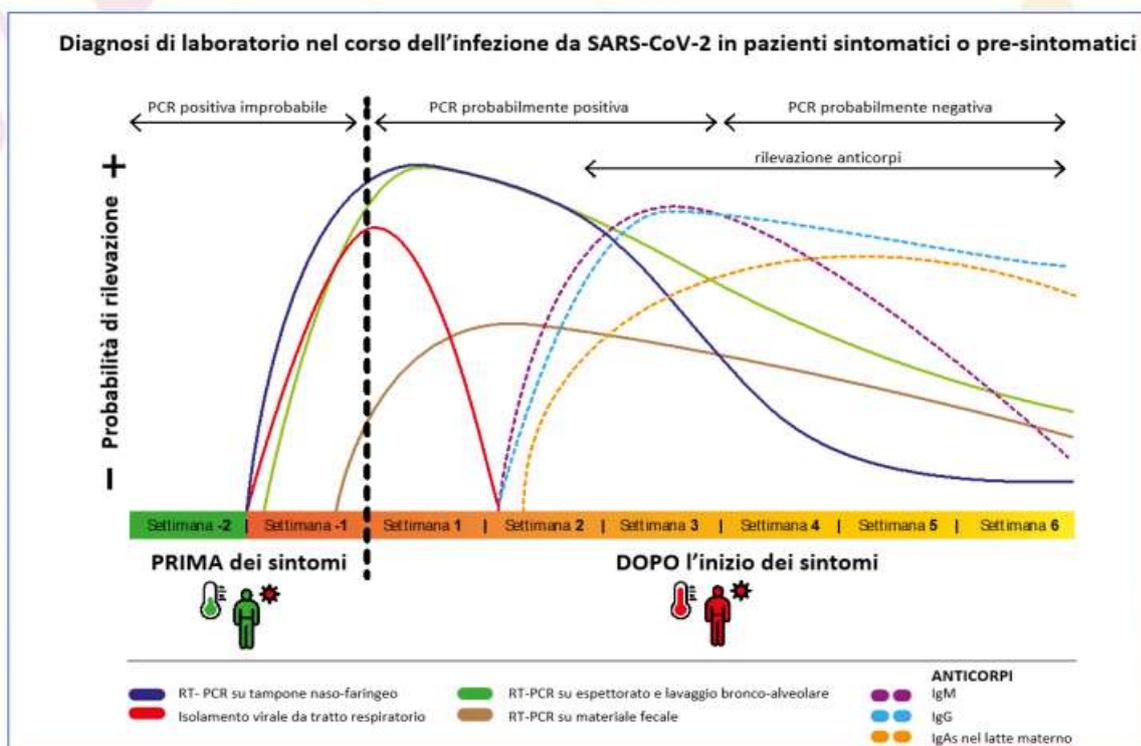
Questi test sierologici sono basati sulla ricerca di specifici anticorpi che si vanno a legare a precisi antigeni del SARS-CoV-2. Dal prelievo venoso è raccolto il siero che viene applicato su una striscia reattiva contenente copie di antigene virale. Per capillarità il siero viene drenato all'interno della striscia dove si incontra con le copie di antigene virale: se il paziente ha sviluppato anticorpi contro il virus, questi riconosceranno e legheranno gli antigeni, indicando una precedente esposizione al SARS-CoV-2.

I kit disponibili per i test sierologici presenti ad oggi sul mercato funzionano attraverso diverse metodiche immunologiche: ELISA (saggio immuno-assorbente legato ad un enzima), Lateral Flow e tecniche di immunofluorescenza. Queste tecniche differiscono dal modo in cui avviene il legame fra antigene e anticorpo.

Gli antigeni utilizzati possono essere proteine, polisaccaridi o lipidi, ma se non sono patogeno-specifici la possibilità di cross reattività aumenta, diminuendo così l'affidabilità del test. Nei test sierologici per sars-cov-2 sono stati utilizzati diversi tipi di antigeni:

- **Proteine Spike** (proteine S): si tratta di proteine dalla forma a fungo che legandosi alla cellula ospite permettono l'entrata del virus nelle cellule. Ogni proteina S è costituita da due subunità: S1 e S2, che possono essere utilizzate contemporaneamente o separatamente all'interno dei test sierologici.
- **Nucleocapside** (proteina N): questa proteina, insieme all'RNA virale, forma il capsido del SARS-CoV-2, giocando un ruolo importante sia nell'infezione che nella patogenesi.
- **Receptor Binding Domain** (RBD): questo antigene rappresenta la porzione di S1 che si lega all'angiotensin-converting-enzyme 2 (ACE2), il recettore umano del SARS-CoV-2.

Un'accurata interpretazione dei test sierologici dipende non solo dalla specificità degli antigeni, ma anche dal tipo di anticorpo che viene rilevato. Le cinque diverse classi di anticorpi presenti nel siero umano giocano ognuna un ruolo diverso nell'immunità. IgM, IgG, IgA e la conta totale degli anticorpi sono i principali target dei test sierologici per il nuovo coronavirus, il loro ruolo viene descritto successivamente. Per quanto riguarda invece la cinetica temporale degli anticorpi contro il coronavirus gli studi sono tuttora in corso, di seguito una cinetica ipotizzata da uno studio pubblicato su Jama agli inizi di maggio.



*Modificata da: Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 [published online ahead of print, 2020 May 6]. JAMA. 2020;10.1001/jama.2020.8259. doi:10.1001/jama.2020.8259

- **IgM:** Sono i primi anticorpi ad essere prodotti in corso di infezione. Possono ritrovarsi sulla superficie delle cellule B in forma monomerica oppure circolanti nel sangue o nel liquido linfatico nella loro forma pentamerica. Rappresentano il 10% degli anticorpi circolanti.
- **IgG:** Sono i più piccoli e i più abbondanti anticorpi. Nella loro forma monomerica rappresentano circa l'80% della conta anticorpale e si trovano principalmente nel siero.

Tipicamente appaiono più tardi in corso di infezione e possono avere un ruolo nella risposta secondaria ad infezione. Dato che sono le più specifiche e le più longeve immunoglobuline, le IgG giocano un ruolo chiave nello stabilirsi dell'immunità post infezione.

- **IgA:** sono principalmente responsabili della difesa delle superfici mucosali. Esistono in forma dimerica e possono essere trovate nel siero, nelle secrezioni mucose, saliva, lacrime, sudore e latte materno.

Per quanto riguarda la cross reattività i test sierologici per il SARS-CoV-2 sono disegnati per avere una specificità nei confronti di questo virus, ma come reagiscono con altri coronavirus? Una cross reattività con i membri di questa famiglia sarebbe particolarmente dirimente, visto che il 60-75% dei bambini ha anticorpi contro uno o più coronavirus, e il 90% degli adulti ha anticorpi contro tutte e 4 le forme di coronavirus. Tuttavia non ci sono molte sequenze nucleotidiche condivise tra il SARS-CoV-2 e i comuni coronavirus (solo il 21-34%), mentre aumenta la cross reattività nel caso di pazienti precedentemente contagiati dal SARS-CoV-1, che ha in comune con il nuovo coronavirus circa il 90% delle sequenze amminoacidiche.

I test sierologici hanno quindi un'applicazione primaria nell'identificazione di individui che siano stati precedentemente infettati da Sars-Cov-2: questi dati possono essere utilizzati per guidare l'epidemiologia e gli studi di sieroprevalenza, ma anche per tracciare i contagi; inoltre questi test possono essere utilizzati nell'identificare dei potenziali donatori di plasma tra i convalescenti e per valutare la risposta immunitaria ai possibili vaccini. Per finire il test sierologico ci fornisce un aiuto nella diagnosi di SARS-CoV-2 in pazienti con tampone negativo che si presentano più tardivamente durante il corso della malattia.

Al contrario i test sierologici non dovrebbero essere utilizzati nella diagnosi di casi acuti o recenti di COVID-19. Inoltre, con le attuali conoscenze, non è possibile utilizzare i test sierologici per identificare soggetti aventi un'immunità protettiva.

La sierologia

Dal punto di vista laboratoristico i segni più frequentemente riscontrati sono¹¹:

- Leucopenia (25%);
- Linfopenia con CD4+ bassi (63%);
- AST elevata (37%);
- Disturbi del controllo glicemico;
- Ipoalbuminemia;
- Elevazione di PCR, ferritina e IL-6 e correlano con la severità della malattia;
- Elevazione di D-dimero, LDH e VES;
- Raramente incrementano anche CPK e creatinina;
- Non si riscontra elevazione dei livelli di procalcitonina (nel caso di elevazione del valore può essere utile orientarsi su altre diagnosi o sospettare una sovrainfezione batterica)²¹.

Il peggioramento dei parametri coagulativi, con un aumento dei livelli di D-dimero, prodotti di degradazione del fibrinogeno e un allungamento del tempo di protrombina, sembra essere associato a una cattiva prognosi.²²

La sierologia supportata dalla rilevazione dei campioni biologici respiratori, può essere di ausilio nella gestione di casi dubbi; per esempio nel paziente paucisintomatico con tampone nasofaringeo negativo ma con sierologia fortemente suggestiva. In questa situazione il paziente viene

considerato “sospetto COVID+” e va ricercato il virus con altra metodico o ripetuto il tampone a distanza di giorni.

Nel caso in cui lo stesso paziente presenti una sierologia negativa, combinato ad un tampone negativo, si può considerare a bassa probabilità di essere COVID+.

Gli accertamenti diagnostici da effettuare in paziente COVID+ variano a seconda della sintomatologia presentata.

In presenza di febbre e sintomi simil-influenzali è necessario effettuare rilevazione plurigiornaliera dei parametri vitali e della saturazione dell’ossigeno (SatO₂) sia basale che sotto sforzo (walking test di circa 6 minuti).

In caso di comparsa di sintomatologia dispnoica appare necessario effettuare approfondimenti diagnostici mediante EGA, RX torace ed eventualmente TC torace.

La rilevazione di SatO₂ mediante saturimetro è di notevole importanza nella gestione domiciliare del paziente; i dati di saturazione basale e quelli riscontrati in corso di walking test sono necessari per valutare la corretta funzionalità polmonare. Generalmente una riduzione di almeno 4% dei valori di saturazione basale è indicativo di un peggioramento, anche se tale valore è > del 90%. Nel caso in cui i valori sotto sforzo si riducono a 92-90% è necessario effettuare un approfondimento diagnostico mediante EGA, nel sospetto di un’insufficienza respiratoria acuta.

L’EGA nei pazienti COVID+ affetti da polmonite interstiziale mostra generalmente una condizione di alcalosi respiratoria con ipossia ed ipocapnia (ipercapnia è possibile nei pazienti con comorbidità).

Gli aspetti radiologici

La radiografia del torace ha una bassa sensibilità nell’identificazione delle alterazioni polmonari più precoci della COVID-19, caratterizzate da opacità a “vetro smerigliato”, pertanto l’esame radiologico non è indicato nelle fasi iniziali della malattia, potendo risultare completamente negativo. Nelle fasi più avanzate dell’infezione l’esame mostra opacità alveolari multifocali bilaterali, che tendono alla confluenza sino all’opacamento completo del polmone, con possibile piccola falda di versamento pleurico associato.²³

La TC del torace, in particolare la TC ad alta risoluzione (HRCT), è la metodica di scelta nello studio della polmonite da SARS-CoV-2, anche nelle fasi iniziali della malattia, data l’elevata sensibilità della metodica. In questo caso, le manifestazioni polmonari possono anche anticipare la positivizzazione del tampone, e talora essere presenti anche nei soggetti senza evidente clinica, per cui il loro riscontro TC può avere un ruolo nella diagnosi precoce. La HRCT, oltre ad avere un ruolo centrale nella diagnosi primaria, risulta essere di fondamentale importanza nella valutazione della severità della malattia.²⁴

Secondo gli studi cinesi, confermati anche da quelli effettuati dai centri italiani, la polmonite da SARS-CoV-2 è più frequentemente multilobare, bilaterale e con coinvolgimento sia delle regioni periferiche che centrali del parenchima polmonare. Le iniziali alterazioni TC del polmone sono rappresentate da aree, più o meno estese, di “ground glass”, come per prevalente coinvolgimento dell’interstizio polmonare, sia come unico pattern o in combinazione con aree consolidative. Con il progredire della patologia, le consolidazioni polmonari diventano sempre più frequenti ed estese, presupponendo un progressivo coinvolgimento degli spazi alveolari.

Raro risulta essere il versamento (< 5%), quando presente è in genere bilaterale e di lieve entità. Non sono mai state riscontrate alterazioni come noduli centrolobulari, ad albero in fiore,

cavitazioni, calcificazioni, linfadenopatie, tantomeno alterazioni delle vie aeree, cioè alterazioni tipiche del coinvolgimento infiammatorio delle piccole vie aeree.²⁵

L'ecografia toracica è una metodica molto sensibile, che in un'ottica di precoce gestione domiciliare del paziente con sintomatologia tipica (es. febbre elevata e tosse secca) sta assumendo un ruolo di grande rilievo. Inoltre è ampiamente utilizzata nel follow up dei pazienti ospedalizzati: in presenza di un artefatto a "coda di cometa" (detta Linea B), con scomparsa delle linee A presenti normalmente nel polmone, possiamo supporre un coinvolgimento interstiziale.

Nei quadri di pre-ARDS o ARDS conclamata (rispettivamente fenotipo 4 e 5) l'ecografia toracica può fare la differenza distinguendo:

- Pazienti con sindrome interstiziale "wet", cioè solo linee B ed uno sliding conservato: è auspicabile un tentativo con CPAP;
- Pazienti con sindrome interstiziale "dry" composta da multipli consolidamenti subpleurici e sliding ridotto: è fondamentale l'intubazione precoce.

Trattamento

Gestione del paziente sintomatico a domicilio: videoconsulto o contatto telefonico

È fondamentale che il paziente abbia un kit di supporto al domicilio con termometro, saturimetro e sfigmomanometro. È quindi essenziale che i pazienti vengano monitorati tramite contatto telefonico e, se possibile, attraverso visite in videoconsulto o tramite visita a domicilio da parte di un medico USCA (Unità Speciali di Continuità assistenziale), ovvero medici dedicati che si recano a domicilio dei pazienti infetti da coronavirus o con forte sospetto di infezione.

COSA VALUTARE DURANTE CONTATTO TELEFONICO O VIDEOCONSULTO

1) parametri come saturazione, pressione arteriosa, temperatura corporea e frequenza respiratoria (valutati dal paziente o dal caregiver).

Attenzione!: il sospetto di polmonite severa è alto se presente febbre o sospetta infezione respiratoria + almeno uno dei seguenti:

- frequenza respiratoria (FR) > 30 atti/minuto;
- affaticamento respiratorio severo;
- SpO₂ < 93%.

2) "Test del cammino": utile in soggetti con SpO₂ nella norma a riposo. Si effettua con saturimetro applicato al dito del paziente, suggerendo una deambulazione di circa 5-6 minuti e chiedendo ai pazienti ad intervalli di circa 1 minuto il valore della saturazione. Il medico è tenuto a indagare con domande mirate anche eventuali sintomi.

3) sensorio e stato di coscienza

4) insorgenza o evoluzione di sintomi:

- Sintomi precoci potrebbero essere rappresentati da disgeusia e anosmia, pertanto anche essi risultano meritevoli di indagine da parte del medico;
- L'esordio con dissenteria è percentualmente minoritario, ma comunque degno di valutazione e considerazione.

Forme cliniche meritevoli di successiva valutazione ospedaliera:

- Peggioramento del quadro clinico a 7-14 giorni di malattia in caso forme inizialmente lievi (è bene porre particolare attenzione a un attento follow-up dei pazienti);

- Necessità di valutazione del paziente in ambito ospedaliero o equivalente (RX o ecografia torace e/o TC, EGA, esami ematochimici) se presenti uno o più dei seguenti fattori:
 - Dispnea di ogni grado;
 - FR > 22 atti/min;
 - SpO₂ ≤ 95% in AA;
 - Alterazioni dello stato di coscienza;
 - Febbre > 38°C di durata ≥ 7 giorni.

Terapia

Ad oggi non esiste nessuna terapia eziologica anti-COVID-19 di comprovata efficacia; tuttavia i trattamenti intrapresi fino ad ora rientrano in trial clinici approvati dai comitati etici o in protocolli di studio. Essendo una malattia nuova non esiste ancora un vaccino, tuttavia sono partite le sperimentazioni.

Nelle linee guida sull'assistenza ai pazienti sono indicate terapie di supporto, come l'ossigenoterapia, la somministrazione di fluidi e l'uso empirico di antibiotici per trattare eventuali sovra-infezioni batteriche. Su alcuni pazienti si stanno utilizzando farmaci già in uso o in sperimentazione per altre patologie, per altri invece vengono condotti test pre-clinici in vista di un possibile uso.

Nello specifico, i principi di terapia nei pazienti COVID-19 sono basati su due fondamenti:

- Terapia di supporto (ossigeno, ventilazione,...);
- Terapia sperimentale (antivirali, idrossiclorochina,...).

La terapia di supporto è soprattutto ventilatoria. L'indicazione all'uso di ossigenoterapia si ha in caso di paziente con febbre e dispnea da lieve a moderata e riscontro di valori di ipossiemia ad EGA. Si inizia generalmente con ossigenoterapia a bassi flussi con occhialini nasali o con maschera facciale e si va a titolare il flusso per raggiungere un obiettivo di SpO₂ ≥ 90% (SpO₂ ≥ 92-95% nelle donne in gravidanza e SpO₂ ≥ 94% nei bambini); è necessario considerare le patologie di base del paziente ed effettuare un costante monitoraggio dei parametri vitali per individuare rapidamente il progressivo deterioramento verso quadri settici e di ARDS. Se disponibile si può eseguire un tentativo di HFNO (high flow nasal oxygenation) con un flusso di almeno 50 l/min e FiO₂ fino al 60%, se il paziente è isolato in ambiente a pressione negativa in assenza di immediata tecnica alternativa. Circa il 5% dei pazienti affetti da COVID-19 può presentare condizioni cliniche tali da richiedere il ricovero in terapia intensiva con necessità di assistenza ventilatoria. Esiste una forte evidenza che l'utilizzo di NIV nel trattamento della polmonite da COVID-19 sia associato ad un outcome peggiore. Su queste basi l'OMS raccomanda, ove possibile, di evitare l'utilizzo di NIV e adottare invece standard che prevedano l'intubazione precoce. In caso di necessità di utilizzo della NIV, questa deve essere impiegata all'interno di un reparto di Terapia Intensiva, limitandola ad un solo tentativo della durata massima di 1h, in caso di SpO₂ ≤ 92%, frequenza respiratoria (FR) > 28atti/min, dispnea e in assenza di controindicazioni (arresto cardiorespiratorio, segni di organ failure, instabilità emodinamica, traumi facciali, ostruzioni delle vie aeree superiori, alterato stato di coscienza). La ventilazione non invasiva e l'ossigenoterapia ad alti flussi aumentano l'aerosolizzazione delle particelle virali e andrebbero effettuate in stanze a pressione negativa; nell'approccio al paziente è fondamentale l'utilizzo di DPI adeguati (vestizione completa con doppio paio di guanti, camice, mascherina, occhiali e cuffia).

Viene consigliato di iniziare con:

- CPAP: 10 cmH₂O, FiO₂ fino al 60%;
- NIV in pressione di supporto ventilatoria (PSV): PS 10-12 cm H₂O, PEEP 10 cmH₂O, FiO₂ fino al 60%.

In caso di fallimento della terapia con CPAP/NIV o in tutti quei casi in cui questa è controindicata e sempre in caso di evidenza ad esame TC di sindrome interstiziale “dry” è indicata la ventilazione invasiva. L'intubazione orotracheale precoce e la ventilazione meccanica invasiva con tecniche di prono-supinazione hanno mostrato i maggiori benefici.

Altre misure di supporto generali sono:

- Monitoraggio continuo dei parametri vitali;
- Monitoraggio dell'emocromo, degli indici di flogosi e citonecrosi, degli indici di funzionalità renale ed epatica, della coagulazione;
- Correzione di eventuali alterazioni dell'equilibrio idrico, acido-base e degli elettroliti plasmatici;
- Probiotici in caso di diarrea;
- Profilassi antitrombotica. Dal momento che è stata dimostrata una maggiore incidenza di trombosi nelle persone affette da SARS-CoV-2, probabilmente dovute sia allo stato infiammatorio, sia all'immobilizzazione prolungata, dopo una accurata valutazione del rapporto rischio/beneficio, si raccomanda l'utilizzo di Enoxaparina s.c. a dosi profilattiche (4000 UI/die) in pazienti con diagnosi di COVID-19 e ad alto rischio di trombosi qualora tale farmaco non sia controindicato (l'uso di acido acetilsalicilico alla dose di 100 mg/die non rappresenta una controindicazione). Un dosaggio terapeutico di 100 UI/kg per 2 volte/die sarebbe indicato nei pazienti critici e in condizioni clinico/laboratoristiche particolari (es. elevazione D-dimero e consumo complemento per attivazione tissutale);
- Prediligere il paracetamolo come antipiretico all'acido acetilsalicilico per prevenire l'insorgenza della Sindrome di Reye;
- Adeguato supporto nutrizionale per via orale o enterale. Evitare la nutrizione parenterale.²⁶

La terapia sperimentale si avvale dell'utilizzo di farmaci antivirali e di quelli immunologici.

Studi in vitro hanno dimostrato che una terapia antivirale precoce è in grado di migliorare il decorso della patologia e soprattutto di ridurre lo sviluppo di insufficienza respiratoria acuta.

Secondo le linee guida SIMIT (Società italiana di malattie infettive e tropicali), il trattamento è indicato nei pazienti con diagnosi virologica accertata:

- Con sintomi lievi in presenza di comorbidità o rischio di mortalità aumentato come l'età avanzata;
- Con manifestazioni cliniche di malattia moderata o severa.

Il farmaco antivirale che attualmente sembra avere la maggior efficacia è l'inibitore combinato della proteasi Lopinavir-Ritonavir, che è in grado di modulare l'apoptosi cellulare e viene utilizzato per il trattamento dell'infezione da HIV. Questo agente combinato ha attività in vitro contro SARS-CoV e sembra avere una certa attività contro MERS-CoV negli studi su animali, con miglioramento clinico e radiologico. Tale trattamento è l'unico attualmente raccomandato da tenere in considerazione per il SARS-CoV-2 al dosaggio di 2 compresse 2 volte al giorno (200/50 mg x 2vv/die a stomaco pieno), insieme all'alfa-interferone per inalazione (50000 UI 2 volte al giorno).^{27, 28}

Un altro farmaco che ha dimostrato una buona efficacia è il remdesivir, un nuovo analogo nucleotidico che ha attività contro SARS-CoV-2 in vitro e virus correlati (inclusi SARS e MERS-CoV) sia in vitro che in studi su animali. Dopo due mesi di trial clinici volti a valutare l'efficacia di remdesivir su SARS-CoV-2, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha autorizzato tale farmaco per il trattamento di COVID-19.

Il favipiravir (nome commerciale Avigan), autorizzato in Giappone dal marzo 2014, non è al momento autorizzato né in Europa, né negli USA, ma il 23 marzo u.s. l'Agenzia italiana del farmaco (AIFA) ha dato il via libera ad un programma di sperimentazione clinica per valutarne l'efficacia e la

sicurezza nella malattia COVID-19, in particolare l'impatto nelle fasi iniziali della malattia. Al momento, secondo questi studi l'efficacia del farmaco su COVID-19 non è stata dimostrata risultando ancora dubbia rispetto a lopinavir-ritonavir, tuttavia risulta essere ben tollerato.

Al momento i farmaci antivirali comunemente usati, inclusi gli inibitori della neuroaminidasi (oseltamivir, paramivir, zanamivir, ecc.) non sono efficaci contro SARS-CoV-2 poiché il coronavirus non produce neuraminidasi; ganciclovir, aciclovir, ribavirina e altri farmaci hanno scarso effetto e non sono raccomandati per l'applicazione clinica.

Per quanto riguarda i farmaci immunologici, il razionale per il loro utilizzo risiede nella capacità di agire sulla tempesta citochinica, diminuendone l'intensità. Il Tocilizumab, anticorpo monoclonale umanizzato che si lega ai recettori di IL-6 sia solubili che di membrana inibendo i segnali mediati da essi e di conseguenza gli effetti proinfiammatori pleiotropici dell'IL-6, ha mostrato risultati interessanti tanto da essere approvato dalla National Health Commission cinese come terapia complementare per i casi gravi di infezione da COVID-19 nei pazienti con polmoniti gravi e nei pazienti con COVID-19 che necessitano di un ricovero presso la Terapia Intensiva. Viene utilizzato nel trattamento dell'artrite reumatoide per bloccare il rilascio massivo di citochine e tra gli effetti collaterali si segnalano: aumento del rischio di infezioni opportunistiche (es. TBC), elevazione delle transaminasi, reazioni durante l'infusione (fino anche all'anafilassi), perforazione gastrointestinale spontanea. In uno studio cinese su 21 pazienti l'associazione di Tocilizumab alla terapia antivirale ha mostrato una buona tollerabilità ed un miglioramento clinico nelle prime 24-48 ore di trattamento. Teoricamente tale farmaco andrebbe riservato solo ai pazienti che presentano elevati livelli di IL-6.²⁹

I protocolli sperimentali condotti dall'AIFA riguardo all'efficacia e alla sicurezza del farmaco hanno dimostrato, secondo uno studio su 126 pazienti, che Tocilizumab non ha alcun beneficio nei pazienti trattati né in termini di aggravamento né per quanto riguarda la sopravvivenza.

La terapia antibiotica va utilizzata solo nel caso in cui non si possa escludere una sovra-infezione batterica. La terapia antibiotica raccomandata si basa sull'associazione di farmaci beta-lattamici (penicilline o cefalosporine) associati ai macrolidi. Tra i macrolidi, si suppone che l'azitromicina abbia una blanda attività anti-infiammatoria ed anti-virale, motivo per cui viene utilizzata in corso di patologia da SARS-CoV-2. Non ha importanti effetti sull'allungamento del QT e viene utilizzata anche come terapia antibiotica empirica nel sospetto di sovra-infezioni o complicazioni batteriche della condizione virale.

In caso di allergia alle penicilline si possono usare i chinoloni respiratori.

La cloroquina e l'idrossicloroquina sono utilizzati come antimalarici e nelle patologie autoimmuni; il loro razionale nella COVID-19 sembra risiedere nella loro attività anti-infiammatoria e anti-virale dimostrata in vitro. L'azione antivirale sembra essere mediata dall'interferenza del farmaco con il recettore ACE2, dall'azione sugli endosomi e dall'attività immunosoppressiva, agendo sulla cascata infiammatoria e diminuendo i livelli di IL-1 e IL-6. Si somministra alla dose di 2 compresse da 200 mg ogni 12 ore per le prime due dosi, poi si continua con 1 compressa da 200 mg ogni 12 ore per 5 giorni. Tra gli effetti collaterali va sottolineata la possibilità di allungamento del QT e di torsione di punta, effetto collaterale comune anche ad altri antivirali utilizzati.³⁰ È fondamentale precisare che se in un primo momento l'uso off-label di idrossicloroquina e cloroquina è stato consentito, alla luce delle evidenze di letteratura recentemente prodotte, l'AIFA ha sospeso l'autorizzazione all'utilizzo off-label di questi farmaci al di fuori degli studi clinici sia ad uso terapeutico che profilattico.³¹

L'utilizzo dei glucocorticoidi è tendenzialmente sconsigliato ad eccezione di condizioni particolari pre-esistenti (asma, BPCO,...) o di competenza intensivistica (alcuni tipi di shock refrattari). In generale, la terapia steroidea non sembra aggiungere benefici in termini di outcome clinico nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2, anzi potrebbe rallentare la clearance del virus. Tuttavia, in considerazione del fatto che è stato del tutto recentemente descritto un beneficio di desametasone a basso dosaggio per un periodo limitato di tempo (10 giorni) nella riduzione significativa della mortalità, in pazienti in ARDS confermata, ma senza infezione da COVID-19, appare ragionevole considerare l'impiego di desametasone esclusivamente in pazienti con ARDS confermata su indicazione intensivistica, nonostante si tratti di una evidenza indiretta.³² Il protocollo applicabile ai casi di ARDS severa e/o rapida progressione clinica è: metilprednisolone 80 mg/die; dosaggio massimale 2 mg/kg e durata del trattamento non superiore di 3-5 giorni. Ad oggi non è ancora stata raggiunta una consensus (e l'OMS si è espressa contro un loro uso sistematico) sulla necessità, sulla molecola, timing e sul dosaggio dei corticosteroidi in pazienti con malattia grave da COVID-19.

L'uso è comunque da riservarsi a pazienti monitorati in ambito ospedaliero o a casi specifici dopo un confronto con lo specialista infettivologo.³³

Per quanto riguarda l'uso dei farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), l'EMA in un comunicato del 18 marzo ha dichiarato di essere venuta a conoscenza di segnalazioni che sconsigliavano l'uso di questi farmaci, come l'ibuprofene, in quanto determinavano un peggioramento della malattia da coronavirus. Attualmente non vi sono prove scientifiche che stabiliscano una correlazione tra l'ibuprofene e il peggioramento del decorso della malattia.

Gli inibitori dell'angiotensina di tipo 2 (ACE-i) troverebbero un razionale per il fatto che il capsid virale per penetrare nelle cellule dell'epitelio alveolare utilizza un dominio recettoriale dell'ACE2; SARS-CoV-2 avrebbe un'affinità maggiore per tali recettori rispetto a SARS-CoV. Questo ha portato a pensare che sia ACE-i che sartani potrebbero facilitare l'invasività del virus aumentando i livelli di ACE2. I sartani, rispetto agli ACE-i sembrerebbero agire in un altro modo: il legame tra SARS-CoV-2 e recettore dell'ACE2 porterebbe ad una down-regulation dell'espressione dell'ACE2. La riduzione dell'attività di ACE2 porterebbe a una riduzione dell'angiotensina 1-7 che sarebbe il responsabile, tramite il legame con il recettore 1 dell'angiotensina (ATR1), della genesi del danno polmonare: questo spiegherebbe perché gli inibitori dell'angiotensina di tipo 2, bloccando ATR1, potrebbero avere un effetto protettivo. A rendere ancora più interessante questa ipotesi, sarebbe l'analisi secondo cui i soggetti in terapia con Losartan e Telmisartan siano meno soggetti a sindromi influenzali o simil-inflenzali rispetto a chi non ne fa uso. Tuttavia i dati in letteratura sono ancora scarsi e dibattuti. La Società italiana dell'Ipertensione Arteriosa (SIIA) ha rilasciato di recente un comunicato in cui sottolinea come, allo stato attuale delle conoscenze, la presunta relazione tra assunzione di terapia farmacologica con ACE-i e sartani e rischio di infezione da coronavirus rappresenta soltanto un'ipotesi e pertanto non deve assolutamente portare il paziente iperteso a sospendere la terapia antipertensiva.

**Documento SIMIT
(27/03/20)**

Tipologia di paziente	Presentazione clinica	Monitoraggio	Trattamento farmacologico
Caso sospetto	Tosse secca, sintomi da raffreddamento	<ul style="list-style-type: none"> • Sorveglianza MMG; • Controllo temperatura corporea (Tc) 2 volte al dì. 	Nessuno
Caso sospetto paucisintomatico (early/mild symptomatic)	Temperatura corporea tra 37,5 e 38,5°C, tosse secca stizzosa, sintomi da raffreddamento senza dispnea	<ul style="list-style-type: none"> • Esecuzione tampone (se fattibile a domicilio); • Sorveglianza MMG; • Controllo Tc e atti respiratori 2 volte al dì. 	<p>Il trattamento prevede l'esecuzione di tampone. Solo in caso di impossibilità l'esecuzione potrà comunque essere iniziato previa valutazione del caso da parte del MMG:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Idrossiclorochina¹: 400 mg bid il 1° gg poi 200 mg bid dal 2° al 10° gg <p>Oppure</p> <ul style="list-style-type: none"> • Clorochina¹: 500 mg bid il 1° gg poi 250 mg bid dal 2° al 10° gg <p><u>ATTENZIONE! Ad oggi non è più approvato il loro utilizzo off-label</u></p>
Caso sospetto sintomatico e/o probabile	Temperatura corporea > 38,5°C, tosse secca stizzosa, continua accompagnata o meno da dispnea	<ul style="list-style-type: none"> • Esecuzione tampone (se fattibile a domicilio); • Sorveglianza e valutazione MMG (apposita scheda); • Controllo Tc 2 volte al dì e atti respiratori 4 volte al dì; • Valutazione saturazione 4 volte al dì (se SpO₂ < 95% consultare MMG); • ECG per via telematica per valutazione rischio CV. 	<ul style="list-style-type: none"> • Azitromicina²: 500 mg/die per 5 gg da assumere durante il pasto principale; • Aumentare idratazione. <p>Antibiotici alternativi ad azitromicina per controindicazioni o allergie:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cefixoral 400 mg per 5gg; • Trimetoprim/sulfametossazolo 416/800 mg 1 cp 2vv/die per 5 gg se allergia a cefixoral e azitromicina.

**SCHEMA TERAPEUTICO
SEMPLIFICATO, LINEE
GUIDA SIMIT**

Tipologia di paziente	Presentazione clinica	Trattamento di supporto	Trattamento antivirale
Paziente asintomatico		Nessuno - sorveglianza	Nessuno
Paziente con sintomi respiratori lievi	Febbre (> 37,5°C), tosse, sintomi da raffreddamento senza dispnea	Trattamento sintomatico	Nessuno
- Paziente con sintomi respiratori lievi ma età > 70aa e/o presenza di comorbidità o rischio di aumentata mortalità	Febbre (> 37,5°C), tosse, dispnea da lieve a moderata	Trattamento sintomatico: -O ₂ terapia.	Lopinavir/ritonavir 200/50 mg 2cps bid (durata trattamento da stabilire secondo evoluzione clinica)
- Paziente con sintomi respiratori moderati e/o RX torace con quadro di		Se il paziente ha respiratory severity scale score > 2, valutare: Desametasone 20 mg/die per 5 gg poi 10 mg/die per 5 gg (su indicazione	+ Clorochina 500mg bid per 20gg 0 Idrossiclorochina 200 mg

polmonite		intensivistica) e/o Tocilizumab	bid (durata trattamento da 5 a 20gg secondo evoluzione clinica) <u>ATTENZIONE! Ad oggi non è più approvato il loro utilizzo off-label.</u> Regime alternativo a lopinavir/ritonavir: darunavir 800mg 1 cp QD + ritonavir 100mg 1cp QD o darunavir/cobistat 800/150 mg QD
Paziente con sintomi severi	ARDS o insufficienza respiratoria globale, scompenso emodinamico, insufficienza multiorgano	Necessaria valutazione rianimatoria e trasferimento in Terapia Intensiva. Pazienti ARDS: dopo 24h dalla diagnosi: Desametasone 20 mg/die per 5 gg poi 10 mg/die per 5 gg (su indicazione intensivistica) e/o Tocilizumab	Remdesivir (se disponibile) dose da carico il 1°gg di 200 mg/ev seguito da una dose di mantenimento di 100 mg/ev/die dal 2° al 10° gg + cloroquina o idrossiclorochina o Lopinavir/ritonavir + Cloroquina o idrossiclorochina (vedi sopra) Regime alternativo a lopinavir/ritonavir (vedi sopra)

Plasma

Una terapia attualmente in studio è anche il plasma dei pazienti guariti da COVID-19. La porzione fluida del sangue di questi soggetti, contenendo anche le Immunoglobuline anti SARS-CoV-2, donerebbe una immunità passiva ai malati, aumentandone la probabilità di guarigione a loro volta. Una revisione sistematica degli studi svolti fino a maggio u.s. ha riportato risultati incoraggianti. La novità della patologia però ci ha fornito per il momento tempo insufficiente per poterlo considerare con certezza un trattamento sicuro ed efficace.³⁴

Diagnosi di guarigione, criteri

Si definisce cl clinicamente guarito da COVID-19, un paziente che, dopo aver presentato manifestazioni cliniche (febbre, rinite, tosse, mal di gola, eventualmente dispnea e, nei casi più gravi, polmonite con insufficienza respiratoria) associate all'infezione virologicamente documentata da SARS-coV-2, diventa asintomatico per risoluzione della sintomatologia clinica presentata. Il soggetto clinicamente guarito può risultare ancora positivo al test per la ricerca di SARS-CoV-2.

Mentre il paziente guarito è colui il quale presenta una risoluzione della sintomatologia da COVID-19 (febbre, rinite, tosse, mal di gola, difficoltà respiratoria, polmonite) e risulta negativo in due tamponi consecutivi, effettuati a distanza di 24 ore uno dall'altro, per la ricerca di SARS-CoV-2.

L'OMS ha modificato questo criterio il 21 giugno, sostituendo l'esecuzione dei tamponi con l'attesa di un numero specifico di giorni, dipendenti dalla presenza o meno di sintomatologia nel soggetto interessato. La stessa OMS ha però incoraggiato i paesi che ne hanno facoltà a seguire il criterio precedente, più impegnativo dal punto di vista delle risorse sanitarie.

La definizione di eliminazione ("clearance") del virus indica la scomparsa di RNA del SARS-CoV-2 rilevabile nei fluidi corporei, sia in persone che hanno avuto segni e sintomi di malattia, sia in persone in fase asintomatica senza segni di malattia.

Tale eliminazione solitamente si accompagna alla presenza di anticorpi specifici di tipo IgG per il virus SARS-CoV-2 prodotti dall'organismo.

Per il soggetto asintomatico, si ritiene opportuno suggerire di ripetere il test per documentare la negativizzazione non prima di 14 giorni (durata raccomandata del periodo di isolamento fiduciario/quarantena) dal riscontro della positività.

La definizione di scomparsa dell'RNA virale è attualmente data dall'esecuzione di due test molecolari, effettuati normalmente a distanza di 24 ore, aventi entrambi esito negativo. La negatività del test deve accompagnarsi alla scomparsa dei sintomi della malattia eventualmente presenti.

Pertanto, ad oggi si ritiene che due test molecolari consecutivi per il SARS-CoV-2 con esito negativo, accompagnati nei pazienti sintomatici dalla scomparsa di segni e sintomi di malattia, siano indicativi di "clearance" virale dall'organismo. L'eventuale comparsa di anticorpi specifici rinforza la nozione di eliminazione del virus di guarigione clinica e virologica. Al momento non è possibile sapere se a questa condizione si associa immunità protettiva e soprattutto permanente dal momento che sono necessari ulteriori studi per valutare il tempo di permanenza degli anticorpi nell'organismo.

Esiti

La malattia da SARS-CoV-2 determina un corteo sintomatologico molto vario che va da forme paucisintomatiche a forme severe di polmonite interstiziale fino ad ARDS (Sindrome da Distress Respiratorio Acuto) o ad esito fatale. Non abbiamo ad oggi evidenze scientifiche valide, ma sembra che la maggior parte delle forme lievi-moderate regrediscano senza lasciare esiti. I quesiti attuali si pongono verso le forme severe a prevalente interessamento polmonare (polmonite interstiziale, ARDS) e in minor misura a forme di con manifestazione clinica extrapolmonare (ageusia, anosmia, sindromi algiche con interessamento neuro-muscolare).

I dati a disposizione in merito alle pneumopatie interstiziali, nello specifico alla polmonite interstiziale acuta, evidenziano a livello bioptico una condizione di flogosi interstiziale e di fibrosi. Questo farebbe supporre che i pazienti COVID+ che hanno sviluppato una patologia polmonare, che si comporta a tutti gli effetti come una polmonite interstiziale, potrebbero in parte non avere una restitutio ad integrum e sviluppare nel tempo un'insufficienza respiratoria cronica da interstiziopatia. Se così fosse per la polmonite da COVID-19 si potrebbe pensare ad una stadiazione della gravità della compromissione polmonare basandosi sulla valutazione clinica e strumentale del paziente dal momento in cui viene dimesso. A tal proposito, stante la normalità dei valori emogasanalitici, oltre alla valutazione radiologica, risultano fondamentali i test di funzionalità polmonare, che potrebbero evidenziare la presenza di una sindrome restrittiva, con volumi polmonari ridotti e ridotta capacità di diffusione alveolo capillare.

Ipotesi prognostiche a lungo termine sulle altre manifestazioni extrapolmonari della malattia non sono al momento possibili, sarà pertanto opportuno uno stretto monitoraggio della popolazione esposta.

Prognosi

La capacità di stabilire con sicurezza e precisione la prognosi del contagio e dell'infezione da COVID-19 è limitata dalla natura in evoluzione dell'epidemia, dalla disparità dei contesti socio-sanitari in cui si è manifestata, e dai possibili bias di selezione che dipendono dalla maggiore o minore intensità diagnostica sulle popolazioni in esame.

Secondo i dati presi in considerazione dall'OMS, l'80% dei casi sviluppa una forma lieve o moderata (difficile risulta stabilire il numero reale degli asintomatici), il 13,8% una forma severa e il 6,1% viene definito critico.

L'età risulta essere uno dei fattori prognostici più importanti. La malattia risulta colpire meno frequentemente i soggetti di età inferiore a 19 anni (2,4%) e, in chi di loro si ammala, sono rare le forme severe e i quadri critici (2,5% e 0,2% rispettivamente). Al contrario, il rischio di sviluppare una forma severa aumenta in maniera importante dopo i 60 anni.

Anche le comorbidità risultano avere un significativo impatto prognostico, in particolar modo si segnala la prevalenza dell'ipertensione arteriosa (oltre che diabete mellito, BPCO, patologia cardiovascolare e neoplastica).

Uno studio osservazionale cinese ha evidenziato un ruolo prognostico importante per il fumo di sigaretta (OR 14,285), presente nel 27,3% dei pazienti con malattia che è progredita nel corso del follow-up e solo nel 3% dei pazienti che si sono stabilizzati o sono migliorati clinicamente. Il medesimo studio evidenzia tra i predittori della progressione di malattia la temperatura all'esordio, il grado di insufficienza respiratoria, l'elevata PCR e il riscontro di bassi livelli di albumina.

Una meta-analisi eseguita su studi cinesi ha mostrato che anche l'incremento della procalcitonina rappresenta un predittore di progressione verso patologia severa, evidenziando un possibile ruolo prognostico delle sovrainfezioni batteriche.

Il tasso di letalità grezzo calcolato dall'OMS è del 3,8%, dato che però si modifica significativamente in base alla fase dell'epidemia e alla localizzazione geografica. Questa variazione suggerisce che la probabilità di sopravvivenza sia fortemente influenzata dalla disponibilità della terapia intensiva e dagli standard del trattamento e dall'esperienza degli operatori.

La mortalità è fortemente legata all'età (21,9% nei soggetti di età superiore a 80 anni), aumenta nel sesso maschile (4,7% vs 2,8%) e nei pazienti con comorbidità (13,2% nei pazienti con malattia cardiovascolare, 9,2% nei diabetici, 8,4% negli ipertesi, 8% negli pneumopatici cronici, 7.6% nei pazienti oncologici).³⁵

Vaccino

Oltre alle strategie di contenimento dell'infezione ed alle possibili terapie, sono in studio numerosi vaccini anti SARS-CoV-2.

A causa della recente comparsa del nuovo virus in quanto agente infettante e della scarsa conoscenza della risposta immunitaria conseguente, sono praticate, nella formulazione dei vari vaccini, strategie diversificate. In particolare sono in studio tre tipologie di vaccini: vaccino a RNA, vaccino a DNA e vaccino proteico. Al 23 aprile l'OMS annunciava 83 vaccini in studio, di cui 7 pronti ad essere testati su volontari umani.

Nonostante la pressione esercitata dalla politica e dalla società, nonché dall'interesse economico, il percorso verso l'approvazione di un nuovo vaccino è resa lunga dai necessari rigidi controlli di sicurezza ed efficacia.

STUDIO

Il 31 gennaio 2020, data in cui il direttore generale dell'OMS dichiarava il focolaio internazionale da nuovo coronavirus un'emergenza di sanità pubblica di rilevanza internazionale, venivano riscontrati i primi due casi di COVID-19 in Italia; si trattava di una coppia di turisti cinesi. Il primo caso non di importazione, conosciuto in Italia come paziente 1, era invece un trentottenne lombardo, ricoverato all'Ospedale di Codogno (Lodi) il 21 febbraio. Di lì a poco sarebbero state istituite le cosiddette "zone rosse" nei comuni veneti e lombardi che presentavano focolai di contagio, con divieto di accesso e allontanamento dal territorio comunale e sospensione di qualsiasi evento pubblico e privato. Nonostante le misure adottate in queste regioni i contagi hanno continuato a diffondersi fino al 9 marzo, data in cui il premier Conte dichiarava l'Italia "zona protetta", espandendo le misure di contenimento di Veneto e Lombardia a tutte le regioni. Fino a quella data non vigevano misure di contenimento ufficiali, ma solo consigli comportamentali di igiene e distanziamento sociale, motivo per cui le normali attività sociali continuavano a svolgersi senza particolari restrizioni. La sottovalutazione delle potenzialità di questa malattia è stata probabilmente dovuta sia alla stretta somiglianza sintomatologica con la comune influenza, normalmente diffusa durante la stagione invernale, sia alla sua assoluta novità.

Sempre il 21 febbraio, a Capannori nella frazione di Segromigno in Monte, in provincia di Lucca, si svolgeva in una trattoria una cena tra amici, coinvolgente 49 persone, protagonisti del nostro studio. Il locale era riservato esclusivamente a questo evento, nessun altro cliente era presente. Le temperature rigide del periodo obbligavano a mantenere chiuse le finestre presenti. Dato l'elevato numero dei partecipanti erano stati disposti 5 tavoli in un unico vano di circa 7x10x3 m (210 m³). La disposizione dei 5 tavoli era a ferro di cavallo: 2 tavoli più piccoli e 3 più grandi, contenenti complessivamente da un minimo di 6 persone a un massimo di 13 persone. Nel momento in cui la cena si svolgeva, in Italia non erano ancora state istituite norme comportamentali di prevenzione riguardo alla diffusione del nuovo virus, per questo motivo nessun partecipante indossava mascherine chirurgiche e all'interno dei singoli tavoli la distanza laterale e frontale tra i soggetti era inferiore ad 1 m.

Durante questa cena, nonostante nessun soggetto presentasse in quel momento sintomi, è nato il primo focolaio della lucchesia, che abbiamo studiato per verificare la contagiosità interna tra le 49 persone e nel contesto sociale da esse frequentato.

Obiettivi dello studio

Obiettivi del presente studio sono:

1. Descrizione della popolazione presa in esame, dal punto di vista di età, sesso, patologie di base e relative terapie croniche e stili di vita;
1. Descrizione della presentazione sintomatologica, del tempo di latenza dell'insorgenza dei sintomi, della durata e del trattamento degli stessi nei partecipanti alla cena;
2. Confronto della disposizione dei partecipanti alla cena con lo sviluppo della sintomatologia e il risultato dei test diagnostici;
3. Stima dell'R0 dei partecipanti alla cena e confronto con i risultati riportati in letteratura.

Materiali e metodi

Il presente studio retrospettivo è stato condotto mediante un'intervista telefonica alle 49 persone presenti alla cena, a distanza temporale di circa 3 mesi dall'evento. Sono stati raccolti e analizzati i seguenti dati:

- Età;
- Patologie di base con relativa terapia;
- Tabagismo;
- Utilizzo di alcol;
- Soggiorno nel milanese o in località al di fuori della regione Toscana nei 14 giorni precedenti alla cena;
- Sintomi sviluppati nei giorni successivi alla cena;
- Tempo di latenza degli eventuali sintomi rispetto al giorno della cena;
- Durata dei sintomi;
- Farmaci utilizzati a domicilio per il trattamento dei sintomi;
- Familiari con sintomi simil-influenzali riportati successivamente al 21 febbraio;
- Eventuale esecuzione di precedenti test diagnostici per il coronavirus;
- Risposta del test sierologico su base volontaria per la valutazione e quantificazione delle IgM e IgG eseguito in contemporanea al tampone oro- e naso-faringeo per la ricerca dell'RNA virale. Il test sierologico ed il tampone erano stati effettuati presso il Centro Analisi Lamm.

La diagnosi sierologica di ricerca e quantificazione degli anticorpi IgM e IgG contro il virus SARS-CoV-2 era stata effettuata su siero/plasma EDTA in seguito a un prelievo sanguigno venoso dagli arti superiori. Il metodo di analisi del campione che è stato utilizzato è il CLIA (Chemiluminescence Immunoassay), MAGLUMI® 2019-nCoV IgG-M (CLIA), SNIBE, CE/IVD/approvato FDA. La sensibilità della metodica (se i saggi vengono eseguiti in contemporanea) è: IgM 89,89% e IgG 95,60%; mentre la specificità è: IgM 89,89% e IgG 96,00%. I risultati sono stati considerati negativi se il valore di IgM e di IgG era < di 1 UA/ml; mentre abbiamo considerato positivi i campioni con valori > 1 UA/ml (intendendo come positivo lo sviluppo anticorpale di IgM e/o IgG contro il virus SARS-CoV-2).

La diagnosi molecolare di ricerca dell'RNA virale si è basata su un campione prelevato dalle alte vie respiratorie mediante tampone naso-faringeo a secco in liquido di stabilizzazione degli acidi nucleici, es. ENA, Copan CE/IVD/approvato FDA. L'analisi del campione ha previsto innanzitutto l'estrazione automatica dell'RNA virale mediante Qiasymphony, Qiagen – QIASymphony DSP

Virus/Pathogen, Qiagen CE/IVD/approvato FDA; Protocollo Virus/Pathogen 400 default IC; Eluizione in 60 uL.

Successivamente è stata eseguita l'amplificazione genica dell'RNA mediante Real time PCR, tecnica che consta di due fasi:

- Preparazione in automatico della reazione PCR mediante QIAgility, Qiagen;
- Amplificazione in Real time PCR su CFX96, Biorad mediante Allplex™ 2019-nCoV Assay (geni RdRp – N – E; IC esogeno; limite di sensibilità 1250 copie/ml), Seegene, CE/IVD/approvato FDA oppure NeoPlex COVID-19 (geni RdRp – N; IC beta-globina; limite di sensibilità 2500 copie/ml), Genematrix, CE/IVD/approvato FDA.

I possibili risultati del tampone per la ricerca dell'RNA virale erano:

- Rilevato, ossia campione positivo;
- Non rilevato, ovvero campione negativo;
- Rilevato a bassa carica, cioè campione dubbio;
- Invalido, ovvero campione non analizzabile, necessario ripetere il prelievo.

Le informazioni riguardanti la popolazione studiata sono state analizzate attraverso un database prefissato.

Descrizione

Delle 49 persone presenti sono state escluse dallo studio 2 persone per mancanza dei dati diagnostici (effettuazione di tampone e/o sierologico).

Le 47 persone esaminate erano tutte di sesso maschile. L'età media era di 57 anni (48-66 anni). Sono state ricoverate e trattate in ambito ospedaliero 3 persone; 1 di questi è deceduto durante il ricovero (in questo caso è stata intervistata la figlia).

Per quanto riguarda le comorbidità, il 46,8% degli intervistati (n = 22) soffriva di una o più patologie di base per le quali venivano assunte terapie croniche.

Le comorbidità riscontrate (presenti in numero di una o più per singolo partecipante) risultavano essere, in ordine di frequenza: ipertensione (25,5%), ipercolesterolemia (17,0%), pregressi infarti miocardici acuti (8,5%), diabete mellito (6,4%), asma (4,3%).

Le terapie assunte in cronico erano relative alla patologia di base manifestata.

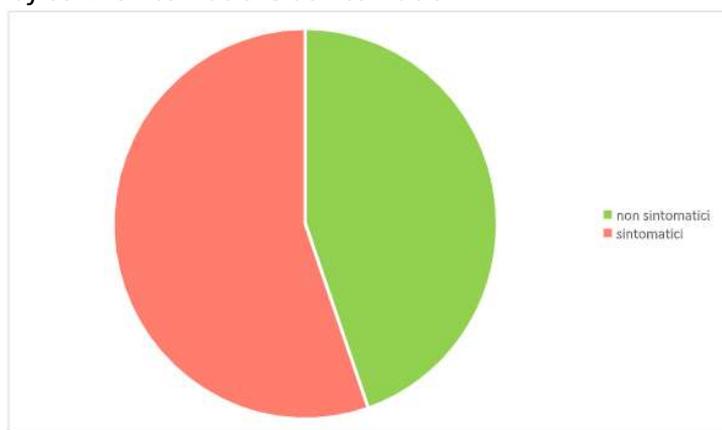
Dei soggetti studiati, 14 (29,8%) erano fumatori, 7 (14,9%) hanno riferito di essere ex fumatori e 26 (55,3%) non presentavano abitudini tabagiche.

La maggior parte della popolazione in esame assumeva quotidianamente una quantità minima di alcol (circa 1 bicchiere/die).

Dei soggetti analizzati, il 25,5% (n = 12), per motivi personali o di lavoro, si erano recati fuori regione nelle 2 settimane precedenti alla cena, 6 di questi (12,8% del totale) si erano recati nel milanese.

Dopo la cena 26 persone (55,3%) avevano sviluppato uno o più sintomi tra cui: febbre, tosse, dispnea, astenia, artralgie e mialgie, anoressia, sintomi gastrointestinali, anosmia e/o ageusia, cefalea, affezioni del tratto respiratorio superiore intese come rinite e faringodinia. Il 44,7% (n = 21) dei soggetti esaminati non aveva manifestato alcun sintomo. Grafico 1

Grafico 1. Sintomatici e asintomatici



Il sintomo di gran lunga più frequente era la febbre, presente nel 76,9% di coloro che avevano sviluppato sintomi, seguito da: tosse (38,5%), principalmente di tipo secco, astenia (30,8%), artralgie e mialgie (26,9%), spesso riferite di notevole entità, anosmia e/o ageusia (23,1%), anoressia (15,4%), sintomi gastrointestinali quali nausea, vomito e/o diarrea (11,5%), dispnea (11,5%), affezioni del tratto respiratorio superiore (7,7%), ed infine cefalea (7,7%).

Per questi sintomi, 18 persone (69,2% dei sintomatici) avevano assunto terapia domiciliare basata su antipiretici, antinfiammatori non steroidei, corticosteroidi, mucolitici, antibiotici a largo spettro (beta-lattamici, cefalosporine, fluorochinoloni).

La mediana del tempo di insorgenza dei sintomi dalla sera della cena era di 5 giorni (1-15 giorni). Mentre la media della durata dei sintomi era di 11 giorni (1-60 giorni).

Della popolazione in esame 7 persone (14,9%) avevano effettuato il tampone per la ricerca dell'RNA virale a seguito della manifestazione sintomatologica suggestiva. Tutti i tamponi effettuati erano risultati positivi per la ricerca di SARS-CoV-2.

Per motivi personali e/o di lavoro, indipendentemente dal fatto che fossero stati sviluppati o meno sintomi, il 21,3% della persone (n = 10) aveva effettuato, privatamente, il test sierologico presso vari laboratori della provincia. Di questi il 60% è risultato positivo per IgM e/o IgG.

Successivamente 37 persone hanno eseguito il test sierologico presso il Centro Analisi Lamm; 6 avevano sierologico precedente noto e non lo hanno ripetuto, 3 avevano un tampone ospedaliero e non hanno effettuato sierologico; ed infine 1 persona ha effettuato tampone domiciliare senza effettuare sierologico.

Presso il Centro Analisi Lamm, per motivi di praticità, contestualmente al test sierologico veniva effettuato anche il tampone, a prescindere dal risultato immunologico.

Dei test effettuati, 17 campioni erano risultati positivi solo alle IgG (45,9%), 2 a IgM e IgG (5,4%) e i restanti 18 campioni (48,6%) erano negativi; mentre tutti i tamponi effettuati contestualmente al test sierologico erano risultati negativi alla ricerca dell'RNA virale (RNA virale non rilevato), a prescindere dal risultato della quantificazione delle immunoglobuline.

In definitiva sono risultate positive a test diagnostico per SARS-CoV-2, indipendentemente dal tipo di metodica diagnostica scelta, 26 persone (55,3%), di cui sintomatiche 24; mentre sono risultate essere negative 21 persone (44,7%), di cui sintomatiche 2. Tabella 1

Dei 6 che si erano recati nel milanese nei 14 giorni precedenti la cena, 3 sono risultati sintomatici e positivi ai test diagnostici, mentre gli altri 3 asintomatici e negativi. Tabelle 2 e 3

	Test diagnostico positivo	Test diagnostico negativo
Sintomi presenti	24	2
Sintomi assenti	2	19
Totale (47 partecipanti)	26	21

Tabella 1. Correlazione tra sintomi e test diagnostico.

Recati a Milano	6
Non recati a Milano	41
Totale	47

Tabella 2. Soggiorno a Milano nei 14 giorni precedenti alla cena

	Positivi	Negativi
Sintomatici	3	0
Asintomatici	0	3

Tabella 3. Correlazione tra sintomi e test diagnostico delle persone che hanno soggiornato a Milano

Dei partecipanti allo studio, 9 (19,1%) avevano avuto familiari o affetti stretti che avevano manifestato sintomatologia simil-influenzale successivamente alla cena. Dei 26 positivi ai test diagnostici gli aventi familiari sintomatici erano 8. I familiari di 18 persone risultate poi positive non avevano invece presentato sintomi. Fra i negativi ai test diagnostici 1 di essi aveva un familiare che aveva presentato sintomi. Tabella 4

	Positivi	Negativi
Familiari sintomatici	8	1
Familiari asintomatici	18	20
Totale (47 partecipanti)	26	21

Tabella 4. Familiari sintomatici ed asintomatici dei partecipanti alla cena, suddivisi in positivi e negativi.

È stata ricostruita la disposizione dei partecipanti alla cena attorno ai 5 tavoli presenti nella sala del ristorante. 1 persona è stata esclusa dalla raffigurazione grafica in quanto vi erano discordanze circa la sua posizione.

Dalla figura seguente è possibile visualizzare i positivi ai test diagnostici, i negativi, i sintomatici e gli asintomatici e le persone provenienti da Milano.

Le conclusioni che possiamo trarre dalla posizione dei partecipanti nella sala sono puramente indicative in quanto, durante la serata, i partecipanti allo studio hanno modificato le loro posizioni attorno ai tavoli per le normali attività di socializzazione.

Nominando i tavoli come in figura sono state osservate le seguenti percentuali di positività ai test diagnostici: 83,3% al Tavolo A; 54,5% al Tavolo B; 54,5% al Tavolo C; 16,7% al Tavolo D; 50,0% al Tavolo E. Figura 1

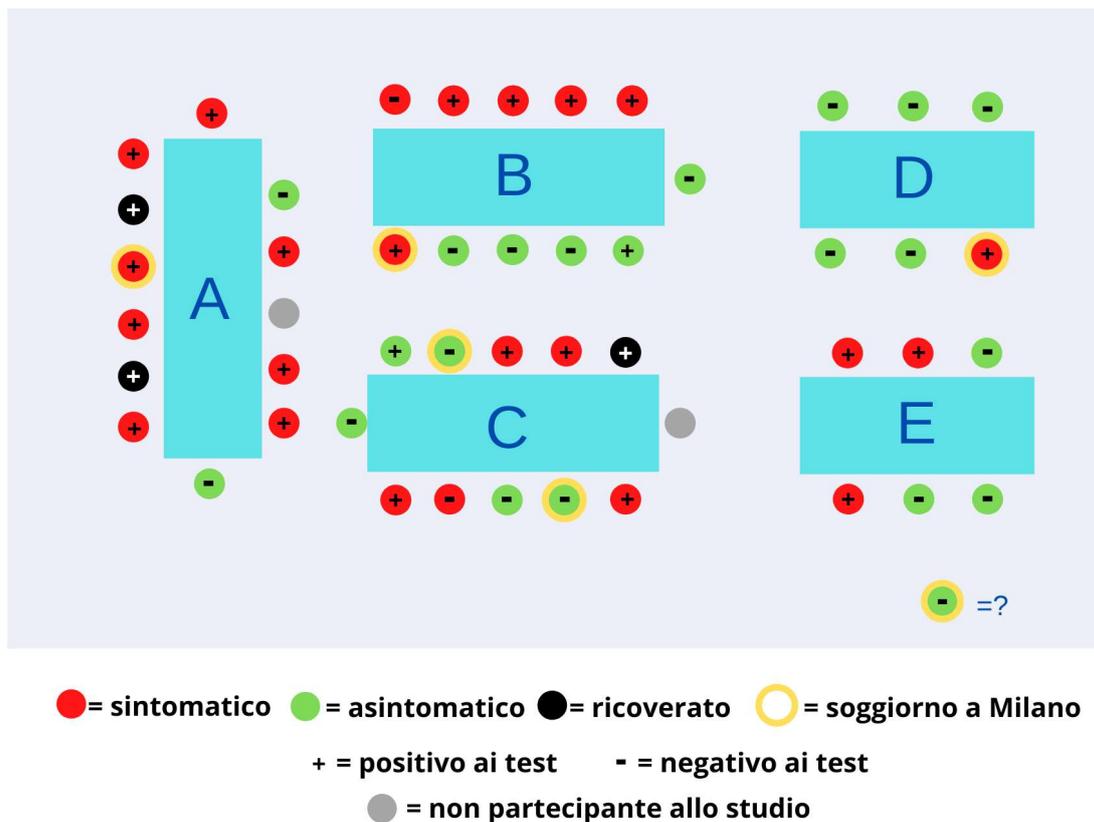


Figura 1. Disposizione grafica tavoli

Risultati

Analizzando le comorbidità delle persone prese in esame risulta che: tra coloro che avevano test diagnostico positivo per SARS-CoV-2 (n=26), 13 di essi soffrivano anche di patologie di base e 13 di essi non avevano note comorbidità. Tuttavia tra coloro che avevano test diagnostico negativo (n=21), 9 di essi aveva note comorbidità e i restanti 12 non avevano patologie croniche sottostanti. Tabella 5

	Comorbidità presenti	Comorbidità assenti	Totale
Diagnosi positiva	13	13	26
Diagnosi negativa	9	12	21
Totale	22	25	47

Tabella 5. Test diagnostico e comorbidità

Dallo studio effettuato è emerso che il sintomo più frequentemente sviluppato è stata la febbre, presente nel 76,9% delle persone con sintomi; il dato da noi riscontrato è in accordo con i dati in

letteratura secondo cui la febbre risulta essere il sintomo più frequente in assoluto (80-98%), tuttavia, sempre in accordo con gli studi precedenti, tale sintomo non è necessariamente presente in tutti i casi riscontrati. In accordo con la letteratura il secondo sintomo più frequentemente riscontrato è stata la tosse, soprattutto di tipo secco, la percentuale emersa dai nostri dati è però risultata inferiore rispetto ai dati precedenti (38,5% vs 76,0%). Anche i restanti sintomi manifestati dai partecipanti alla cena risultano essersi presentati con una frequenza non discordante dalle frequenze dei sintomi emersi dagli studi effettuati su larga scala (mialgie e artralgie 26,9% vs 10-44%; cefalea 7,7% vs 10%; sintomi gastrointestinali 11,5% vs 5-10%; dispnea 11,5% vs 20-60%, rinite 7,7% vs 5-15%, ageusia e/o anosmia 23,1% vs 22-68%).^{11, 14, 15} Grafico 2

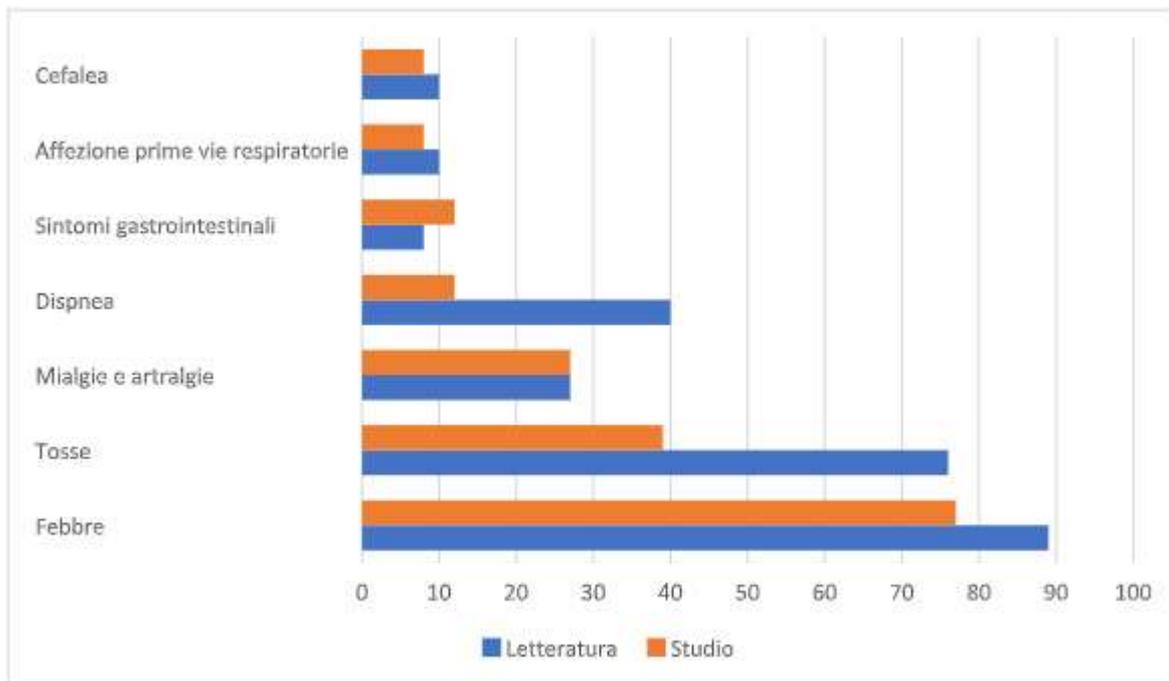


Grafico 2. Confronto sintomi studio e letteratura

La mediana del tempo di latenza delle manifestazioni sintomatologiche è di 5 giorni secondo i dati emersi dallo studio della cena, con un minimo di 1 giorno e un massimo di 15 giorni, in accordo con i dati di letteratura (tempo di latenza 5 giorni con un range di 2-14 giorni; secondo un recente studio pubblicato su *Annals of Internal Medicine* nel 97,5% dei casi i sintomi compaiono entro 11,5 giorni).¹²

Dal momento che i primi casi diagnosticati in Italia si trovavano nel milanese proprio nel periodo in cui si è svolta la cena, è verosimile che il livello di diffusione fosse maggiore in quella zona rispetto alla Toscana. Pertanto è ragionevole ipotizzare che i primi casi verificatisi nella nostra zona fossero di importazione. Considerando le 6 persone che hanno soggiornato a Milano nei giorni precedenti alla cena, le 3 di esse che hanno manifestato sintomi avevano anche test diagnostici positivi mentre le restanti 3 erano negative ai test e non presentavano sintomi. A partire da questi dati possiamo ipotizzare che l'*R0* in questa circostanza fosse compreso tra 7 e 8 (calcolandolo attraverso il rapporto tra persone contagiate e persone provenienti da Milano con sintomi e test diagnostici positivi).

Tuttavia è fondamentale sottolineare che le 3 persone che si suppone possano aver importato il virus dall'area lombarda al momento in cui si è svolta la cena si trovavano in fase pre-sintomatica.

La percentuale degli ospedalizzati nel nostro studio è pari all'11,5%.

La letalità riscontrata è pari a 3,8%. Nonostante i nostri dati siano basati su un numero ristretto di casi, non si discostano dai dati riportati in letteratura per questa fascia di età.

Conclusioni

Dall'analisi dei dati raccolti, emerge che il 55,3% dei partecipanti è risultato positivo a uno dei test diagnostici per SARS-CoV-2 e che il sintomo più frequente è stato la febbre. La quasi totalità dei positivi è stata curata a domicilio, mentre 3 persone hanno necessitato di cure ospedaliere ed 1 persona è deceduta.

Per quanto riguarda il rapporto tra presenza di sintomi imputabili ad infezione da SARS-CoV-2 e patologie di base i risultati da noi ottenuti non hanno una significatività statistica, probabilmente a causa dell'esiguo numero di soggetti presi in esame.^{13, 36}

L'RO stimabile dalle nostre ipotesi risulta quindi più elevato rispetto a quello presente in letteratura (7,7 vs 3,8).¹⁰ Questa discrepanza verosimilmente è dovuta alle condizioni in cui si è svolta la cena, come suggeriscono alcuni studi: ambiente chiuso non areato, dimensioni contenute del locale rispetto alla densità dei presenti, assenza di misure adeguate alla prevenzione di un eventuale contagio (mascherine chirurgiche, distanziamento sociale, igienizzazione delle mani). Questi comportamenti furono tenuti in virtù del fatto che non erano ancora state emanate norme restrittive.³⁷

Un'altra osservazione che è possibile trarre dal nostro studio è la presenza al Tavolo A del maggior numero di contagiati (83,3% dei seduti al tavolo). Questo ci conferma le teorie illustrate in letteratura sulla capacità di diffusione del virus in relazione alla distanza tra le persone.

Fra le persone recatesi a Milano nei giorni precedenti alla cena 3 si sono perennemente mantenute negative ai test diagnostici e non hanno sviluppato alcun sintomo. Questo ci porta ad interrogarci, anche in vista di studi futuri, sulla possibile esistenza di fattori personali protettivi nei confronti dell'infezione.

Vista la asintomaticità al momento della cena dei tre provenienti da Milano, a partire dai quali abbiamo ipotizzato l'RO, possiamo dedurre che la trasmissione della malattia possa avvenire anche da soggetti asintomatici o presintomatici (trasmissione per aerosol) come conferma lo studio condotto da Yu et al.^{38,39}

Tenendo conto della possibilità che soggetti asintomatici o presintomatici possano essere infettanti (possibilità data della trasmissione per via aerosol) risultano essenziali i seguenti comportamenti: utilizzo dei dispositivi di protezione individuale **adeguati** (terzo livello), distanziamento sociale, igienizzazione delle mani, areazione dei locali, evitare effusioni affettive interpersonali, evitare il sovraffollamento dei locali chiusi. In particolare si può ritenere fondamentale l'**areazione dei locali** e questa procedura appare raccomandata per tutti i locali pubblici ed anche in ambiente domestico

Per ultimo, visto che il primo caso in Italia è stato diagnosticato il giorno stesso della cena, sapendo che esiste una latenza fra il contagio e lo sviluppo dei sintomi, ma anche fra lo sviluppo dei sintomi e la diagnosi è ragionevole pensare che i casi presenti in Italia potessero essere dovuti a contagi avvenuti nelle settimane precedenti.

Acronimi

aa: anni
ACE2: Enzima 2 convertitore dell'angiotensina
ACEi: Inibitori dell'enzima convertitore dell'angiotensina
ATR1: Recettore 1 dell'angiotensina
AIFA: Agenzia italiana del farmaco
ARS Toscana: Agenzia Regionale di Sanità della Toscana
AST: Aspartato transaminasi
BPCO: Broncopneumopatia cronica ostruttiva
CD4: glicoproteina CD4
CDC: Centers of disease control and prevention
CLIA: Chemiluminescence Immunassay
COVID-19: Coronavirus disease '19
CPAP: Continuous positive airway pressure
CPK: Creatinfosfochinasi
ECDC: Centro europeo per la prevenzione e controllo delle malattie
EDTA: Acido etilendiamminotetracetico
EGA: Emogasanalisi
EMA: Agenzia Europea
FANS: Farmaci antinfiammatori non steroidei
FDA: Food and drug administration
FFP (FFP2 e FFP3): Filtering face piece
FiO2: Flusso d'Ossigeno
FR: Frequenza respiratoria
HFNO: high flow nasal oxygenation
HIV: Virus dell'immunodeficienza umana
HRCT: TC ad alta risoluzione
Ig: Immunoglobuline
IL-6: Interleuchina 6
IQR: Scarto interquantile
IOT: Intubazione oro-tracheale
LDH: Lattatodeidrogenasi
MERS: Sindrome respiratoria mediorientale
MMG: Medici di medicina generale
MODS: Sindrome da disfunzione multiorgano
NIV: Ventilazione non invasiva
OMS o WHO: Organizzazione Mondiale della Sanità (World Health Organisation)
OR: Odds ratio
PaO2: Pressione arteriosa d'Ossigeno
PCR: Proteina C reattiva
PEEP: Positive end-expiratory pressure
PHEIC: Public Health Emergency of International Concern
PS: Pressione di supporto
RO: Numero di riproduzione di base

RCP: Rianimazione cardio-polmonare
RNA: Acido ribonucleico
RSA: Residenza sanitaria assistenziali
RX: Radiografia
SARS: Sindrome respiratoria acuta grave
SatO2: Saturazione d'Ossigeno
SIIA: Società italiana ipertensione arteriosa
SIMIT: Società italiana di malattie infettive e tropicali
TBC: Tubercolosi
TC: Tomografia computerizzata
UI: Unità internazionale
USCA: Unità Speciali di Continuità assistenziale
VES: Velocità di eritrosedimentazione

Bibliografia

1. Bai Y, Yao L, Wei T, Tian F, Jin DY, Chen L, et al. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *Jama*. 2020; **323**(14): 1406-7.
2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; **579**(7798): 270-3.
3. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *The New England journal of medicine*. 2020; **382**(12): 1177-9.
4. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London, England)*. 2020; **395**(10224): 565-74.
5. Elshafeey F, Magdi R, Hindi N, Elshebiny M, Farrag N, Mahdy S, et al. A systematic scoping review of COVID-19 during pregnancy and childbirth. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2020; **150**(1): 47-52.
6. Smith V, Seo D, Warty R, Payne O, Salih M, Chin KL, et al. Maternal and neonatal outcomes associated with COVID-19 infection: A systematic review. *PloS one*. 2020; **15**(6): e0234187.
7. Carlos WG, Dela Cruz CS, Cao B, Pasnick S, Jamil S. Novel Wuhan (2019-nCoV) Coronavirus. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2020; **201**(4): P7-p8.
8. Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *The Journal of hospital infection*. 2020; **104**(3): 246-51.
9. Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet (London, England)*. 2020; **395**(10223): 514-23.

10. Lin YF, Duan Q, Zhou Y, Yuan T, Li P, Fitzpatrick T, et al. Spread and Impact of COVID-19 in China: A Systematic Review and Synthesis of Predictions From Transmission-Dynamic Models. *Frontiers in medicine*. 2020; **7**: 321.
11. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine*. 2020; **382**(18): 1708-20.
12. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Annals of internal medicine*. 2020; **172**(9): 577-82.
13. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020; **323**(11): 1061-9.
14. Carrillo-Larco RM, Altez-Fernandez C. Anosmia and dysgeusia in COVID-19: A systematic review. *Wellcome open research*. 2020; **5**: 94.
15. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama*. 2020.
16. Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020; **295**(3): 200463.
17. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)*. 2020; **395**(10223): 497-506.
18. Lai CC, Liu YH, Wang CY, Wang YH, Hsueh SC, Yen MY, et al. Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Facts and myths. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. 2020; **53**(3): 404-12.
19. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C, et al. Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *The New England journal of medicine*. 2020; **382**(10): 970-1.
20. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2020; **25**(3).
21. Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2020; **505**: 190-1.
22. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2020; **18**(4): 844-7.
23. Yang W, Cao Q, Qin L, Wang X, Cheng Z, Pan A, et al. Clinical characteristics and imaging manifestations of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19): A multi-center study in Wenzhou city, Zhejiang, China. *The Journal of infection*. 2020; **80**(4): 388-93.
24. Pan Y, Guan H, Zhou S, Wang Y, Li Q, Zhu T, et al. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China. *European radiology*. 2020; **30**(6): 3306-9.
25. Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, et al. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet Infectious diseases*. 2020; **20**(4): 425-34.

26. Jin YH, Cai L, Cheng ZS, Cheng H, Deng T, Fan YP, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Military Medical Research*. 2020; **7**(1): 4.
27. Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *The New England journal of medicine*. 2020; **382**(19): 1787-99.
28. Chu CM, Cheng VC, Hung IF, Wong MM, Chan KH, Chan KS, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax*. 2004; **59**(3): 252-6.
29. Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020; **117**(20): 10970-5.
30. Zhou D, Dai SM, Tong Q. COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2020; **75**(7): 1667-70.
31. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International journal of antimicrobial agents*. 2020: 105949.
32. Villar J, Ferrando C, Martínez D, Ambrós A, Muñoz T, Soler JA, et al. Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet Respiratory medicine*. 2020; **8**(3): 267-76.
33. Arabi YM, Mandourah Y, Al-Hameed F, Sindi AA, Almekhlafi GA, Hussein MA, et al. Corticosteroid Therapy for Critically Ill Patients with Middle East Respiratory Syndrome. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2018; **197**(6): 757-67.
34. Valk SJ, Piechotta V, Chai KL, Doree C, Monsef I, Wood EM, et al. Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a rapid review. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2020; **5**(5): Cd013600.
35. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive care medicine*. 2020; **46**(5): 846-8.
36. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet (London, England)*. 2020; **395**(10223): 507-13.
37. Ng Y, Li Z, Chua YX, Chaw WL, Zhao Z, Er B, et al. Evaluation of the Effectiveness of Surveillance and Containment Measures for the First 100 Patients with COVID-19 in Singapore - January 2-February 29, 2020. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2020; **69**(11): 307-11.
38. Yu X, Yang R. COVID-19 transmission through asymptomatic carriers is a challenge to containment. *Influenza and other respiratory viruses*. 2020; **14**(4): 474-5.
39. Orsucci G, Rocchi R, Menconi A, Salvoni FA Studio retrospettivo su un focolaio di CoViD-19 sviluppatosi a febbraio durante una cena nel comune di Capannori (Lucca). 2020; *Recenti Progressi in Medicina*